Sociedade Brasileira de Química

Editado por
Francisco José Krug
Fábio Rodrigo Piovezani Rocha

Métodos de PREPARO DE AMOSTRAS

Para Análise Elementar

2ª Edição

Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar

2ª Edição

Editores
Francisco José Krug
Fábio Rodrigo Piovezani Rocha

Editora
*Edit*SBQ
SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA
São Paulo, Brasil
2019

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA

Presidente da SBQ
Norberto Peporine Lopes

Editora da Sociedade Brasileira de Química
Coordenador da *Edit*SBQ
Etelvino José Henriques Bechara

SBQ Ano 42

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Krug, Francisco José
Métodos de preparo de amostras para análise elementar / 2. ed. rev. ampl. / editado por Francisco José Krug; Fábio Rodrigo Piovezani Rocha. - - São Paulo: EditSBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2019.
586 p. : il.

ISBN 978-85-64099-22-7

1. Preparo de amostras 2. Química analítica I. Krug, Francisco José, ed. II. Rocha, Fábio Rodrigo Piovezani, ed. III. Título

CDU 543.05

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – Os autores"

© 2019 by Sociedade Brasileira de Química
Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Sociedade Brasileira de Química.

Diagramação: Hermano Matos - São Paulo, SP - hermano50@terra.com.br
Impressão e acabamento: Triunfal Gráfica & Editora - Assis, SP - atendimento@graficatriunfal.com.br

Às nossas queridas esposas Maria Lúcia (Muc) e Tatiana (Tati) pelo amor, carinho, compreensão e apoio em mais esta jornada inesquecível de nossas vidas.

Chico e Fábio

AGRADECIMENTOS

Ao querido amigo *Joca (Joaquim de Araújo Nóbrega)*, pelo incentivo, sugestões e apoio incondicional em todas as ações que resultaram na publicação desta obra.

A todos os autores, amigos que participaram da elaboração deste livro, colaborando para que esta edição também pudesse perpetuar o sucesso de todos os Workshops realizados.

Aos autores do livro de 2008, *Antonio Celso Spínola Costa, Andrea Caviccioli, Andréa Cristina Tomazelli, Carlos Emanuel de Carvalho Magalhães, Elisabeth de Oliveira, Günther Knapp e Marco Aurélio Zezzi Arruda,* que não puderam estar conosco neste novo livro, mas cuja lembrança ficará para sempre em nossa memória.

Aos amigos *Cassiana Semi Nomura, Dário Santos Junior, Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, Iolanda Aparecida Rufini, Lidiane Cristina Nunes, Marcelo Braga Bueno Guerra e Wanessa Melchert Mattos* pelas cuidadosas revisões dos capítulos.

Aos amigos *Marcos Kamogawa e Andrea Fenili* pela arte que resultou na capa deste livro.

Aos amigos *Filipe Soares Rondan* e *João Geraldo Brancalion* pelo preparo das figuras deste livro e à *Márcia Mesko* pela orientação na elaboração e revisão das mesmas.

À Marília Ribeiro Garcia Henyei, bibliotecária da Seção de Biblioteca do CENA, pela elaboração da ficha catalográfica.

À *Milestone Srl*, na pessoa de *Camillo Pirola*, pela contribuição para a impressão do livro.

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio em todos os *Workshops sobre Preparo de Amostras* realizados.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à CAPES - Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio aos docentes das várias instituições de ensino e pesquisa, que também participam desta edição.

Ao INCTAA-Instituto Nacional de Ciências em Técnicas Analíticas Avançadas.

À Rossimirian Pereira de Freitas e Dirce Maria Fernandes Campos pela orientação e apoio junto à Sociedade Brasileira de Química. Ao Hermano Matos, pela dedicação, profissionalismo e cuidadosa edição desta obra.

APRESENTAÇÃO

Em 2008, inspirados em uma série de monografias preparadas por vários professores e colaboradores para as primeiras seis edições do Workshop sobre Preparo de Amostras, publicou-se o livro "*Métodos de preparo de amostras. Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*". O seu lançamento foi feito com o apoio da Sociedade Brasileira de Química, por ocasião de sua 31ª. Reunião Anual, em Águas de Lindóia-SP.

Ao longo de 8 anos, foram impressos 1200 exemplares, metade dos quais destinada aos participantes dos 4 workshops realizados entre 2008 e 2014 em São Carlos-SP, Santa Maria-RS, Belo Horizonte e São Paulo. O restante foi impresso unidade por unidade, a pedido dos interessados. A obra foi também adotada como livro-texto em cursos de química e como livro de referência em concursos públicos.

Este livro, prefaciado pelo querido amigo Celio Pasquini, é uma versão revisada e ampliada, com novos capítulos e, aproximadamente, o dobro do conteúdo do livro de 2008.

Esta segunda edição, revisada e atualizada, conta, agora, com um índice remissivo. Esperamos que ela continue promovendo a cultura do conhecimento com foco no preparo das amostras, contribuindo para a educação em Química e para seu contínuo desenvolvimento.

Esta é uma obra sem fins lucrativos, cujos direitos autorais foram cedidos à Sociedade Brasileira de Química por todos os profissionais que contribuíram para a sua elaboração.

Francisco José Krug
Fábio Rodrigo Piovezani Rocha

HOMENAGEM

Este livro é dedicado ao Prof. Ramon Murray Barnes (University Research Institute for Analytical Chemistry, URIAC, Amherst, USA), que sugeriu, em uma de suas visitas científicas ao Laboratório de Química Analítica "Henrique Bergamin Filho" do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP), a realização de um Workshop sobre Preparo de Amostras (WPA) no Brasil, à semelhança de um evento que organizava, anualmente, na Universidade de Massachusetts. Em 1995, fomos convidados para conhecer esta experiência em Amherst, que foi o marco decisivo para a realização do I WPA em Piracicaba, em 1996. Os dez Workshops já realizados proporcionaram significativos avanços científicos no preparo de amostras em muitas instituições brasileiras de ensino e de pesquisa. Registramos nossos agradecimentos a este querido professor e inestimável amigo que sempre compartilhou seus conhecimentos e experiência para o bem do seu próximo.

As palavras que se seguem foram gentilmente escritas pelo Prof. Joaquim de Araújo Nóbrega, por meio das quais todos os autores deste livro prestam esta merecida homenagem:

This book is dedicated to Prof. Ramon Murray Barnes (University Research Institute for Analytical Chemistry, URIAC, Amherst, USA). Prof. Barnes is the founder of the Workshop on Sample Preparation successfully realized either at the University of Massachusetts or at the URIAC during many years. In 1995, Prof. Barnes has invited F. J. Krug to participate in this workshop and this was the milestone to the future meetings to be held in Brazil. The first Brazilian edition of the Workshop was held in 1996 at CENA, and many others have joined this amazing and challenging scientific adventure and plenty have taken advantage of the growth of this area in Brazil. We may say without a shadow of doubt that Prof. Barnes is behind many Brazilians´ advances in spectrochemistry and in sample preparation areas and we honor his efforts by offering him this book as one of the many trees that he has patiently seeded in Brazil.

PREFÁCIO

O preparo de amostras visando sua análise constitui uma etapa crucial na sequência analítica. Se for realizada de forma imprudente leva a resultados completamente inúteis. A diversidade de matrizes, de espécies e elementos de interesse, denominados analitos, que precisam ser determinados, e de técnicas analíticas de medida, impõe a adoção de estratégias adequadas, e às vezes únicas, de preparação das amostras capazes de dispor os analitos para medição, preservando sua representatividade. A escolha da estratégia adequada para atingir este objetivo requer conhecimento tanto sobre as características da amostra, do problema analítico a ser resolvido, bem como das diversas formas de preparo para análise.

Este livro trata exatamente destas estratégias em nível de estado da arte. O seu conteúdo é abrangente e profundo, permitindo ao seu leitor tomar conhecimento das técnicas clássicas e modernas empregadas no preparo dos diversos tipos de amostras visando sua apresentação às diferentes técnicas analíticas de medida.

Aspectos teóricos e práticos sobre as diversas estratégias de tratamento de amostras, bem como os equipamentos disponíveis para implementá-las são apresentados em proporção exata permitindo que tanto o usuário da indústria e laboratórios prestadores de serviços analíticos, quanto os pesquisadores interessados em desenvolver ainda mais esta importante área da Química Analítica tenham neste livro uma fonte de informação completa e extremamente valiosa. Além disso, o conteúdo, embora especializado, é apresentado de forma suficientemente didática para ser empregado em cursos em nível de pós-graduação ou mesmo de graduação.

Os editores e autores desta obra são pesquisadores reconhecidos nacional e internacionalmente por atuar durante muitos anos organizando eventos, desenvolvendo pesquisa, promovendo e disseminando o conhecimento sobre o preparo de amostras. Este livro resulta da experiência adquirida por eles nessas atividades e representa uma contribuição notável aos profissionais e estudantes das diversas áreas do conhecimento que desenvolvem a Química Analítica ou que necessitam fazer bom uso dela.

Campinas, 24 de setembro de 2016

Celio Pasquini

INFORMAÇÕES SOBRE OS AUTORES

Ana Rita de Araujo Nogueira, Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP.

Cassiana Seimi Nomura, Professora do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

Cezar Augusto Bizzi, Professor do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.

Dário Santos Junior, Professor do Departamento de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal de São Paulo, Diadema-SP.

Diogo Pompéu de Moraes, Professor do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.

Éder Lisandro de Moraes Flores, Professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Medianeira, Medianeira-PR.

Érico Marlon de Moraes Flores, Professor do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.

Fabiane Goldschmidt Antes, Analista da Embrapa Suínos e Aves, Setor de Gestão de Laboratório de Análises Físico-Químicas, Concórdia-SC.

Fábio Andrei Duarte, Professor do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.

Fábio Rodrigo Piovezani Rocha, Professor do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Laboratório de Química Analítica "Henrique Bergamin Filho", Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP.

Francisco José Krug, Professor do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Laboratório de Química Analítica "Henrique Bergamin Filho", Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP.

Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, Pós-doutorando, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

Joaquim Araújo Nóbrega, Professor do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP.
José Neri Gottfried Paniz, Professor do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.
Juliana Severo Fagundes Pereira, Professora do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.
Juliano Smanioto Barin, Professor do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.
Lidiane Cristina Nunes, Pós-doutoranda, Laboratório de Química Analítica "Henrique Bergamin Filho", Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP.
Marcelo Braga Bueno Guerra, Professor do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.
Márcia Foster Mesko, Professora do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.
Marcos da Silva Gomes, Professor do Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial SENAI "Shunji Nishimura", Pompéia-SP.
Marcos Yassuo Kamogawa, Professor do Departamento de Ciências Exatas da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP.
Mauro Korn, Professor do Departamento de Ciências Exatas e da Terra da Universidade do Estado da Bahia, Salvador-BA.
Paola de Azevedo Mello, Professora do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.
Pedro Vitoriano de Oliveira, Professor do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.
Rochele Sogari Picoloto, Professora do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.
Rodolfo de Melo Magalhães Santana, Professor do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA.
Telma Blanco Matias, Consultora em Análises Químicas de Materiais, São Carlos-SP.
Valderi Luiz Dressler, Professor do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.

SUMÁRIO

Capítulo 1

A sequência analítica

Francisco José Krug, Joaquim de Araújo Nóbrega

1.1. Introdução 3
1.2. Etapas e tarefas na sequência analítica 4
1.3. Eficiência analítica e robustez 15
Referências 17

Capítulo 2

Fundamentos do preparo de amostras

Fábio Rodrigo Piovezani Rocha, Joaquim Araújo Nóbrega, Marcos Yassuo Kamogawa

2.1. Preparo de amostra: o que se busca? Como se avalia a eficiência? 21
2.2. Tipos de amostras 23
2.3. Reagentes típicos: propriedades e efeitos 26
2.4. Aspectos físicos e químicos que afetam o preparo de amostras 30
2.4.1. Aspectos termodinâmicos 31
2.4.2. Aspectos cinéticos 36
2.5. Considerações finais 38
Referências 39

Capítulo 3

Erros sistemáticos no preparo de amostras

Dário Santos Junior, Joaquim Araújo Nóbrega, Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, Francisco José Krug

3.1. Introdução 43
3.2. O branco analítico 46
3.3. Erros por contaminação 50
3.3.1. Contaminação pelo ar 50
3.3.2. Contaminação por reagentes e soluções 58
3.3.3. Contaminações por impurezas em frascos de reação e recipientes 64

3.4. Perdas por volatilização 71
3.5. Erros devidos à adsorção e dessorção 74
3.5.1. Limpeza e descontaminação de materiais 75
3.5.2. Uma recomendação para armazenamento/preservação de soluções para determinação de elementos-traço 78
3.6. Erros devidos à decomposição ou dissolução incompleta das amostras 79
3.6.1. Erros devidos à decomposição incompleta de materiais orgânicos 79
3.6.2. Erros devidos à dissolução/decomposição incompleta das amostras inorgânicas 83
3.6.3. Outros erros 84
Referências 85

Capítulo 4

Tratamentos preliminares

Dário Santos Júnior, Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, Marcelo Braga Bueno Guerra, Marcos da Silva Gomes, Marcos Yassuo Kamogawa, Francisco José Krug

4.1. Limpeza 91
4.2. Secagem 93
4.3. Moagem 95
4.4. Peneiramento 111
Referências 114

Capítulo 5

Análise direta de sólidos e suspensões

Cassiana Seimi Nomura, Dário Santos Junior, Lidiane Cristina Nunes, Marcelo Braga Bueno Guerra, Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, Pedro Vitoriano Oliveira, Francisco José Krug

5.1. Introdução 125
5.2. Análise direta de sólidos 126
5.2.1. Homogeneidade e massa de amostra 126
5.2.2. Avaliação da micro-homogeneidade 129
5.2.3. Influência do tamanho das partículas na homogeneidade 132
5.2.4. Calibração em análise direta de sólidos 132
5.2.5. Análise direta de sólidos por técnicas espectroscópicas 135
5.3. Análise de suspensões 160
5.3.1. Preparo das suspensões 164
Referências 168

Capítulo 6

Ultrassons para o preparo de amostras

Mauro Korn, Dário Santos Júnior, Rodolfo de Melo Magalhães Santana, Francisco José Krug

6.1. Considerações gerais sobre os ultrassons 185
6.2. Ultrassons na amostragem de suspensões 189
6.3. Extração assistida por ondas ultrassônicas 191
6.4. Decomposições assistidas por ondas ultrassônicas 200
Referências 202

Capítulo 7

Solubilização e decomposição de sólidos inorgânicos

Francisco José Krug, Joaquim Araújo Nóbrega, Marcelo Braga Bueno Guerra, Fábio Rodrigo Piovezani Rocha, Telma Blanco Matias

7.1. Introdução 211
7.2. Critérios para a escolha do procedimento de dissolução 212
7.3. Métodos de dissolução em ácidos 214
7.3.1. Ácidos diluídos 214
7.3.2. Ácidos minerais concentrados 216
7.3.3. Propriedades dos ácidos minerais mais comuns 216
7.3.4. Misturas de ácidos minerais 222
7.3.5. Misturas de ácidos com outros reagentes 223
7.4. Decomposição por fusão 225
7.4.1. Princípios 225
7.4.2. Características de alguns fundentes 227
7.4.3. Aplicações 229
7.4.4. Aplicação da fusão na espectrometria de fluorescência de raios X 233
7.4.5. Recomendações Práticas 235
Referências 236

Capítulo 8

Piroidrólise

Éder Lisandro de Moraes Flores, Érico Marlon de Moraes Flores, Fabiane Goldschmidt Antes, Fábio Andrei Duarte, Juliano Smanioto Barin, Valderi Luiz Dressler

8.1. Introdução 241
8.2. Histórico e fundamentação teórica 241

8.3. Sistemas de piroidrólise 245
8.4. Aplicações 248
Referências 256

Capítulo 9

Decomposição de materiais orgânicos por via úmida

Juliano Smanioto Barin, Cezar Augusto Bizzi, Érico Marlon de Moraes Flores, Joaquim Araújo Nóbrega, Francisco José Krug

9.1. Decomposição em sistemas abertos 265
9.1.1. Método de Kjeldahl 272
9.2. Decomposição em sistemas fechados 275
9.2.1. Método de Carius 276
9.2.2. Decomposições em frascos pressurizados 278
9.3. Comparação entre sistemas abertos e fechados de decomposição 293
Referências 296

Capítulo 10

Preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas

Diogo Pompéu de Moraes, Cezar Augusto Bizzi, Joaquim Araújo Nóbrega, Érico Marlon de Moraes Flores, Ana Rita de Araujo Nogueira, Juliano Smanioto Barin, Márcia Foster Mesko

10.1. Introdução 301
10.2. Conceitos teóricos 303
10.2.1. Relações básicas fundamentais 304
10.3. Instrumentação 313
10.3.1. Aspectos gerais 313
10.3.2. Fornos de radiação micro-ondas 314
10.3.3. Recipientes para decomposição 320
10.3.4. Sistemas de decomposição com câmara única de reação assistidos por radiação micro-ondas 326
10.3.5. Sistemas de decomposição com radiação micro-ondas focalizadas (monomodo) 329
10.4. Aplicações e tendências 333
10.4.1. Radiação micro-ondas focalizada em frascos fechados 335
10.4.2. Uso de mini-frascos 336
10.4.3. Emprego de ácidos diluídos para o preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas em sistema fechado 338

10.4.4. Métodos alternativos de decomposição com micro-ondas com radiação focalizada em sistemas abertos e em fluxo 345
10.4.5. Sistemas de decomposição em fluxo 350
10.4.6. Decomposição assistida por micro-ondas combinada com ultrassom 354
10.4.7. Aplicações da decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em normas oficiais 355
10.5. Conclusões 358
Referências 359

Capítulo 11

Decomposição de materiais orgânicos por combustão

Érico Marlon de Moraes Flores, Éder Lisandro de Moraes Flores, José Neri Gottfried Paniz, Juliano Smanioto Barin, Márcia Foster Mesko, Francisco José Krug

11.1. Introdução 373
11.2. Combustão em fornos tipo mufla 377
11.2.1. Introdução 377
11.2.2. Uso de aditivos 381
11.3. Decomposição em tubo de combustão 383
11.4. Decomposição em baixas temperaturas com plasma de oxigênio 387
11.4.1. Aplicações dos sistemas de decomposição com plasmas de oxigênio à baixa temperatura 392
11.5. Decomposição em sistema dinâmico de combustão 394
11.6. Sistema de combustão de Wickbold 397
11.7. Frasco de combustão de Schöniger 400
11.7.1. Tipos de frascos 401
11.7.2. Utilização de aditivos para auxiliar a combustão 405
11.7.3. Soluções absorvedoras 406
11.7.4. Vantagens e limitações 407
11.7.5. Artigo original de Walther Hempel 410
11.8. Bomba de combustão 412
11.9. Combustão iniciada por micro-ondas em sistema fechado 418
11.9.1. Principais aplicações 422
11.9.2. MIC aplicada para matrizes inorgânicas 429
11.10. Combustão iniciada por radiação micro-ondas focalizada em sistema aberto 432
11.10.1. Arranjo experimental e procedimento para FMIC 433
11.10.2. Procedimento de decomposição por FMIC 436
11.11. Considerações finais 437
Referências 438

Capítulo 12

Decomposição promovida por radiação ultravioleta

Ana Rita de Araujo Nogueira, Juliana Severo Fagundes Pereira, Marcos Yassuo Kamogawa

12.1. Fundamentos 461
12.2. Digestões com radiação UV 465
12.2.1. Mecanismo de destruição de material orgânico por fotólise com radiação UV 467
12.3. Combinação de radiação ultravioleta e radiação micro-ondas 473
Referências 479

Capítulo 13

Preparo de amostras para especiação química

Paola de Azevedo Mello, Fábio Andrei Duarte, Márcia Foster Mesko, Ana Rita de Araujo Nogueira, Érico Marlon de Moraes Flores

13.1. Especiação química 487
13.1.1. Definições 488
13.1.2. Aspectos gerais da análise de especiação 489
13.1.3. Integridade das espécies: estabilidade desde a amostragem até a detecção 493
13.1.4. Instrumentação para detecção na análise de especiação 495
13.2. Métodos de preparo de amostras para análise de especiação 499
13.2.1. Considerações gerais sobre a extração de espécies de amostras sólidas 501
13.2.2. Extração líquido-líquido 502
13.2.3. Extração em fase sólida 506
13.2.4. Extração assistida por micro-ondas 509
13.2.5. Extração assistida por ultrassom 510
13.2.6. Extração com fluído supercrítico 511
13.2.7. Extração acelerada por solvente 511
13.3. Preparo de amostras para análise bioinorgânica 512
13.3.1. Aspectos gerais 512
13.3.2. Preparo de amostras 514
13.4. Aplicações selecionadas 516
13.4.1. Amostras líquidas 516
13.4.2. Amostras sólidas 517
13.4.3. Amostras de gases 517
13.5. Considerações finais e tendências 522
Referências 523

Capítulo 14

Aspectos de segurança no preparo de amostras

Márcia Foster Mesko, Rochele Sogari Picoloto, Paola de Azevedo Mello

14.1. Segurança no laboratório: generalidades 545

14.2. Segurança no laboratório de preparo de amostras 546

14.2.1. Características das amostras e do sistema de decomposição 547

14.2.2. Características dos reagentes 550

14.3. Aspectos de segurança dos sistemas de decomposição 551

14.3.1. Sistemas com aquecimento convencional ou por radiação micro-ondas 552

14.3.2. Sistemas de decomposição com frascos abertos 553

14.3.3. Sistemas de decomposição com frascos fechados 555

14.3.4 Características gerais de segurança dos sistemas fechados de decomposição 555

14.4. Considerações finais 561

Referências 561

Índice remissivo 563

Capítulo 1

A SEQUÊNCIA ANALÍTICA

Francisco José Krug
Joaquim de Araújo Nóbrega

"It is the capability of understanding and executing all phases of analysis that ultimately characterizes the true analytical chemist, even though he or she may possess special expertise in a particular separation or measurement technique."

Kratochvil e Taylor, 1972* [1]

** Originalmente lembrados por Woitties e Sloof* [2]

1.1. INTRODUÇÃO

A missão da química analítica é propor os meios para a determinação de uma ou mais espécies químicas (*e.g.* moléculas, íons e elementos) em diferentes materiais. Em princípio, a química analítica deve envolver um problema, que poderá ser solucionado analisando-se uma ou mais amostras por um método apropriado. A análise direta (*i.e.* sem qualquer tratamento) *in situ* é, em princípio, a ideal para os analistas, pois a determinação das espécies de interesse pode ser feita diretamente no local de amostragem e a sequência analítica ficará restrita a poucas etapas, tornando-se mais simples. Entretanto, ainda são poucos os equipamentos com desempenho apropriado para a determinação em campo de espécies químicas de interesse em diferentes tipos de amostras. Dentre os recursos comercialmente disponíveis para determinações elementares *in situ*, destacam-se as espectrometrias de fluorescência de raios X (XRF), de emissão óptica com excitação por faísca (SS-OES) e de emissão óptica com plasma induzido por *laser* (LIBS). Como nem sempre é possível analisar as amostras *in situ*, deve-se eleger um procedimento de amostragem e armazenamento das amostras de forma apropriada, para serem encaminhadas ao laboratório, para a determinação do(s) elemento(s) de interesse, aqui denominado(s) de analito(s). Apesar da análise direta dessas amostras ser possível, em geral, também se requer uma ou mais etapas de preparo (*e.g.* homogeneização). A espectrometria atômica oferece alguns métodos para a análise direta de sólidos, os quais serão tratados neste livro, com foco no preparo das amostras.

Não obstante, ainda predominam os métodos que requerem a transformação da amostra em uma solução. No laboratório, a amostra poderá ser submetida a tratamentos preliminares (*e.g.* secagem e moagem), até a completa transformação

da amostra sólida em uma solução compatível com o método de determinação. A maneira de se dissolver e/ou decompor a amostra para a análise depende da sua natureza, do analito e de sua concentração, do método de determinação e da precisão e exatidão desejadas. Em alguns casos, a relação *massa de* amostra/*volume de solução* deve ser flexível para que a diluição da amostra seja compatível com o limite de detecção do método e com a faixa linear de resposta. O tratamento da amostra também poderá promover uma transformação da espécie química de interesse para uma forma que seja apropriada para a aplicação do método de determinação selecionado.

1.2. ETAPAS E TAREFAS NA SEQUÊNCIA ANALÍTICA

Antes de se proceder ao estudo detalhado sobre pré-tratamento de amostras, é conveniente rever as etapas que um analista deverá considerar para a realização das análises. Essas etapas são dispostas em uma sequência, algumas das quais são comentadas neste capítulo.

Segundo o guia CITAC/EURACHEM,[3] a análise é uma investigação complexa que pode ser resumida por uma série de tarefas (etapas). Nem sempre todas as tarefas são obrigatórias. As medidas não devem ser realizadas apenas como uma das etapas, pois elas dependem de um processo iterativo que envolve:

- Especificação das necessidades
- Revisão das informações *
- Criação*
- Plano de estudos*
- Amostragem
- Preparo das amostras
- Análise preliminar*
- Identificação/confirmação da composição química
- Análise quantitativa
- Coleta e revisão de dados
- Interpretação dos dados/solução do problema
- Relatório dos resultados/aconselhamento

As tarefas marcadas com asterisco têm maior importância no contexto das análises que não são feitas em rotina.

Neste livro, algumas recomendações do *Guide to Quality for Analytical Chemistry*, editado pelo CITAC e EURACHEM,[3] serão mencionadas na sequência analítica proposta na monografia de Anderson,[4] segundo a qual as principais etapas são:

a) *Definição do problema*

Este deve ser o primeiro passo no planejamento de uma análise, *i.e.* deve-se responder à questão: "*qual é a informação analítica desejada*?" A definição do problema estabelece os objetivos qualitativos, quantitativos e/ou estruturais (ou temporais) da sequência analítica. A informação desejada pode ser o teor de ferro em farinha de trigo enriquecida com vistas à Resolução-RDC Nº 344 da ANVISA,[5] ou os teores de cádmio e chumbo em fertilizantes, que atendam ao disposto na Instrução Normativa nº 27 de 2006 do Ministério da Agricultura,[6] por exemplo.

b) *Escolha do método*

A escolha do método de análise para a determinação das espécies químicas pode se basear em vários critérios e, idealmente, o método selecionado deverá ser devidamente validado.

Está implícito que os métodos de preparo da amostra e de determinação escolhidos devem ser compatíveis. Se o método de determinação permitir a análise direta de sólidos, a qualidade do preparo da amostra poderá depender, por exemplo, do método de moagem, visando à diminuição de microheterogeneidade das amostras; se o método de determinação permitir somente a análise de soluções, está implícito que o método de decomposição deverá proporcionar a transformação da amostra em uma solução representativa da amostra original e compatível com a instrumentação.

Assim, é imprescindível que o método de determinação seja escolhido *a priori*, para que se possa definir a estratégia mais apropriada para a obtenção dos resultados analíticos que permitam a solução do problema. Com base nesta escolha é que se define o método de amostragem e como a amostra deverá ser preparada antes de proceder à determinação dos analitos. Essa escolha requer conhecimento sobre as dificuldades que poderão limitar o desempenho do método de determinação. De fato, há inúmeros casos em que o método de determinação é escolhido sem que se tenha conhecimento de como as amostras deverão ser preparadas. De qual-

quer forma, a partir do momento em que se souber exatamente qual é a informação desejada, pode-se decidir com detalhes como ela será obtida:

i. O método de análise deve ser eficiente e, sempre que possível, simples e rápido;
ii. O método de análise não deve implicar em danos aos materiais nos quais as amostras serão tratadas e analisadas;
iii. O método de análise não deverá ser passível de erros sistemáticos (*e.g.* riscos de contaminações, perdas por volatilização e perdas por adsorção);
iv. A seletividade do método deverá ser previamente conhecida;
v. As amostras deverão ser processadas com mínima manipulação;
vi. É imprescindível que os resultados sejam obtidos com a máxima segurança operacional.

Idealmente, a escolha deverá ser feita por um método devidamente validado. A validação de um método estabelece, a partir de estudos sistemáticos em laboratório(s), se o método possui características para produzir resultados para a solução do problema analítico. A validação é um processo que estabelece as características de desempenho e as limitações de um método analítico, permitindo identificar os fatores que podem afetar as características de desempenho. Assim, o processo de validação estabelecerá quais analitos poderão ser determinados, especificando-se a matriz ou as matrizes e os riscos de interferências. Além disso, nas condições estabelecidas, será possível prever os níveis de precisão e exatidão alcançados. A validação deve fornecer subsídios ao usuário do método, para que se saiba, com antecedência, em que condições o método selecionado será apropriado para a obtenção de resultados que possibilitem a solução do problema. Quando se tratar do preparo de amostras sólidas, por exemplo, deve ficar bem claro que o método de preparo é válido para as amostras de interesse, que as amostras deverão ser secas (condições de secagem explícitas) e moídas apropriadamente (tipo e características do moinho, grau de cominuição das partículas e tempo mínimo de moagem), os limites para a massa da porção amostrada, a classe de limpeza do ar do laboratório, se há necessidade ou não de controle de umidade (uso de dessecadores) e de temperatura durante o armazenamento. Se as amostras forem digeridas, por exemplo, deve-se informar que o método de digestão é compatível (apropriado) com o(s) método(s) de determinação do(s) analito(s). Nesse aspecto, está implícito que o método de determinação faz parte do processo de validação.

Para melhor orientar o analista quanto à escolha do método, recomenda-se, também, considerar as restrições de tempo e de custo, a incerteza dos resultados, bem como a necessidade de rastreabilidade e de controle e garantia de qualidade.

Nota sobre os conceitos de técnica, método e procedimento analítico

A intenção desta nota é comentar como estes termos podem ser empregados na química analítica sem que haja prejuízo para o bom entendimento deste texto. Em princípio, não existe consenso na literatura sobre o emprego dos termos *técnica* e *método*, e o que se observa, na prática, é o uso de ambos como sinônimos. Não obstante, o termo *técnica* pode ser empregado em um sentido mais amplo, que guarda o princípio, e o *método* como o meio de se utilizar esse princípio.

Assim, espectrometria de absorção atômica é uma técnica analítica, que se baseia na medida da absorção de radiação da região UV ou visível do espectro eletromagnético por átomos gasosos no estado fundamental, ao passo que a chama e o forno de grafite podem ser os métodos de atomização empregados. Assim, seria apropriado dizer que a *espectrometria de absorção atômica com chama* é um método analítico. O mesmo raciocínio pode ser feito com a técnica de espectrometria de emissão óptica, que pode ser classificada de acordo com o método de excitação (arco elétrico, faísca elétrica, plasma indutivamente acoplado, plasma induzido por *laser*), com a técnica de espectrometria de absorção molecular com diferentes métodos espectrofotométricos (azul de molibdênio, cianina eriocromo R, tiocianato, ditizona etc), e com outras técnicas.

Na literatura o termo *procedimento* tem sido usado de forma consensual, no qual os detalhes dos métodos de amostragem, de preparo da amostra e de determinação são descritos com a necessária clareza para a obtenção dos resultados e para a sua reprodução por outros laboratórios ou por outro analista de um mesmo laboratório.

c) *Amostragem*

Exceto nas análises *in situ*, as análises químicas são sempre precedidas pela amostragem. Seleciona-se uma pequena quantidade de material (a amostra) para determinar a composição química de uma população muitíssimo maior. Idealmen-

te, a amostra deveria ter exatamente a mesma composição da população a ser amostrada, ou seja, a parte deve ser uma representação perfeita do todo mas, teoricamente, isso nunca acontece, e as discrepâncias dão origem às incertezas na amostragem.[7]

Assim, é comum afirmar que a amostragem é um processo que consiste na seleção e remoção de uma pequena parte de um todo, que seja representativa, mas suficiente para cumprir o objetivo analítico. Segundo Ramsey,[8] o termo "amostragem representativa" é subjetivo e pode ser melhor compreendido como "amostragem suficientemente representativa" ou apropriada, que proporcione resultados com níveis de incerteza aceitáveis para a tomada de decisão.

A terminologia relacionada ao processo de amostragem pode confundir o leitor, pois alguns termos não são consistentes entre uma e outra aplicação. Para evitar confusão, os termos usados devem ser claramente definidos. É importante garantir a mesma terminologia na comparação de dois ou mais métodos de amostragem. Não obstante, cabe mencionar que existe uma recomendação da IUPAC, proposta por Horwitz em 1990,[9] cujos termos originais são apresentados entre parênteses:

- **Amostra** (*sample*): porção que representa o todo. A amostra representa toda a população de interesse. Pode ser coletada em um único local ou ser uma amostra composta. A amostra composta é resultante da mistura de várias amostras coletadas em diferentes locais dentro da população de interesse.
- **Sub-amostra** (*subsample*): quando a amostra é homogeneizada e dividida entre diferentes laboratórios, ou quando a amostra é grande e somente uma parte é levada ao laboratório de análise.
- **Amostra laboratorial** *(laboratory sample)*: amostra ou sub-amostra entregue no laboratório.
- **Amostra teste** (*test sample*): amostra preparada no laboratório de análise a partir da amostra ou sub-amostra entregue no laboratório. Cabe mencionar que, apesar de o termo *preparo de amostra* ser apropriado para descrever esta etapa de amostragem, o preparo poderá envolver outros tratamentos.
- **Porção amostrada, alíquota amostrada, alíquota** (*test portion*): refere-se ao material que foi pesado ou selecionado para análise a partir da amostra laboratorial. Essa porção pode ser selecionada diretamente da amostra primária ou da sub-amostra. Geralmente, seleciona-se uma alíquota ou porção da amostra teste.

Notas:

(i) Quando a amostra ou sub-amostra passa por tratamentos no laboratório, como uma cominuição precedida de quarteamento, mistura e moagem, por exemplo, a amostra laboratorial é transformada na amostra teste. Quando nenhuma preparação da amostra laboratorial se fizer necessária, a amostra laboratorial é a própria amostra teste.

(ii) A amostra laboratorial é a amostra final do ponto de vista de quem a coletou, mas é a amostra inicial do ponto de vista do laboratório de análises.

Cabe mencionar que, segundo o guia CITAC/EURACHEM,[3] as operações analíticas começam com a pesagem da amostra teste ou da própria amostra laboratorial, conforme o diagrama da Figura 1.1.

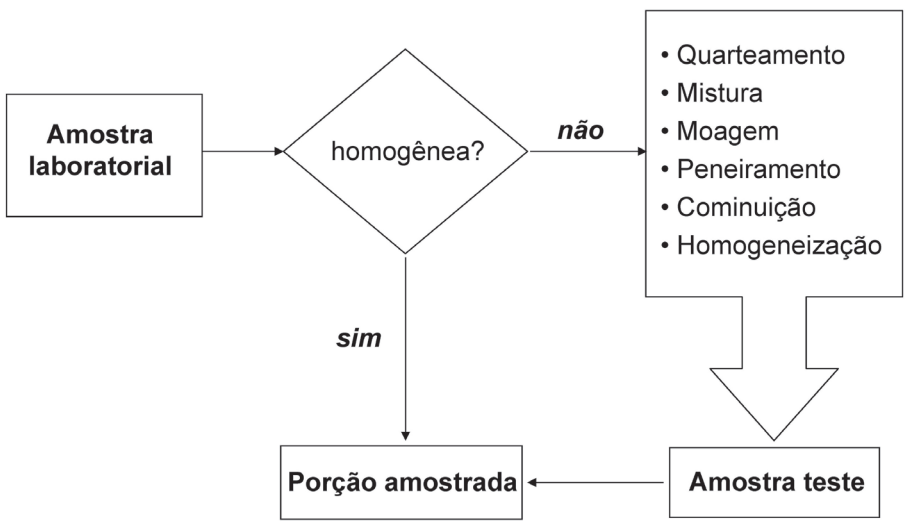

Figura 1.1. Diagrama de amostragem no laboratório. Adaptada da referência 10.

Se a porção amostrada não for apropriada, não será possível relacionar o resultado analítico com a composição do material original, independentemente da qualidade do método e de todos os cuidados para a determinação do analito. Assim, cabe destacar que, mesmo aplicando-se um procedimento analítico devidamente validado e por mais cuidadoso que seja o seu emprego, um problema analítico somente será resolvido se as amostras forem apropriadas para a solução do problema.

A amostragem requer experiência e conhecimento sobre o problema e a química relacionada com o preparo da amostra. Para a seleção de amostra(s) apro-

priada(s) recomenda-se que a seleção de uma ou mais amostras do material de interesse seja feita por especialista com conhecimento de toda a sequência analítica.

A amostragem sempre contribui para a incerteza dos resultados. Como será visto no Capítulo 5, existem métodos que requerem porções amostradas menores que 1 mg e, consequentemente, as incertezas devidas à amostragem laboratorial tornam-se mais importantes, pois terão uma maior contribuição na incerteza dos resultados.

Nesse sentido, deve ficar implícito que:

- a alíquota (porção amostrada) deverá representar a amostra laboratorial;
- para garantir que a alíquota seja apropriada, é necessário reduzir o tamanho das partículas, o que é feito usando métodos de moagem;
- não deverá haver segregação dos constituintes da amostra durante o pré-tratamento e seleção da alíquota;
- devem-se prever riscos de contaminação.

De acordo com Petersen *et al.*[11] somente a teoria de amostragem fornece subsídios que permitem estabelecer, compreensivelmente, como deve ser feita a amostragem e a quantidade de material que deverá ser selecionada de um lote. Para muitos tipos de amostras heterogêneas, frequentemente a amostra primária tem que ter uma massa considerável para que seja representativa, a qual depende decisivamente da qualidade do amostrador. O artigo de Petersen *et al.*[11] faz uma análise de desempenho de diversos instrumentos de amostragem existentes no mercado, destacando os métodos mais eficientes para que a redução de massa da amostra primária para a amostra laboratorial seja, de fato, apropriada. No caso de amostras sólidas, por exemplo, cabe lembrar que as reduções de massa são da ordem de 1:1000 a 1:10000 vezes e que as porções amostradas são, tipicamente, menores que 1 g.

No contexto da teoria de amostragem, a amostra laboratorial deve ser classificada como amostra secundária. A amostragem primária é aquela feita no campo, em esteiras rolantes de minerações, na linha de produção de alimentos, em rios, em águas de sistemas de tratamento, nos fornos siderúrgicos, entre tantos outros exemplos.

A amostragem primária requer a superação de inúmeros problemas potenciais, que a tornam uma das operações mais difíceis em todo o processo analítico. As principais fontes de incerteza incluem (i) definição dos objetivos da amostragem,

(ii) características da amostra (*e.g*. heterogeneidade, estado de agregação, composição, estabilidade, disponibilidade e distância do laboratório) e (iii) protocolo experimental, incluindo a disponibilidade de ferramentas de amostragem; preservação e transporte das amostras; localização, número e tamanho das amostras. As incertezas na amostragem são tratadas tanto na teoria de amostragem como na teoria dos erros de amostragem. Essas teorias têm sido revistas e comentadas em diversos artigos, destacando-se contribuições de Pierre Gy,[12] Esbensen *et al.*[13-15] e Ramsey e Thompson[7, 8] e uma análise crítica pelo *Analytical Methods Committee* da *Royal Society of Chemistry*.[16] A leitura desses artigos é altamente recomendável.

d) ***Pré-tratamento da amostra e separação***

Em geral, a amostra deve ser convertida em uma forma adequada para que a espécie química de interesse seja determinada. Somente na mais simples das situações, a amostra poderá ser analisada sem qualquer tipo de pré-tratamento, que poderá incluir ou não alguma forma de separação. Deve-se relembrar que, na sequência analítica,[3] as operações analíticas começam com a tomada de uma alíquota da amostra laboratorial ou mesmo a partir da amostra laboratorial. Essa é a situação predominante neste livro. Em muitos casos, o pré-tratamento é um método de separação. A digestão (decomposição) de um material orgânico, por exemplo, permite a separação da fração orgânica, mantendo-se os analitos em uma solução. Em outros casos, separa-se o analito da matriz por volatilização.

De qualquer forma, é necessário ter certeza de que o sinal obtido na etapa de medição é devido somente ao analito e não à presença de espécies quimicamente similares ao analito. Isso significa uma confirmação da identidade do analito. A possibilidade de ocorrer, ou não, interferência por uma outra espécie química dependerá da eficiência do método de separação e da seletividade/especificidade da etapa de medição. Também é preciso garantir que o sinal medido não é gerado por artefatos produzidos durante a manipulação da amostra.

Seletividade e especificidade são parâmetros de desempenho que avaliam a confiabilidade dos resultados das medições (medidas) na presença de interferentes. Apesar de não existir um consenso universal, um método é considerado específico quando responder somente ao analito. Do ponto de vista prático, é necessário verificar se o método de determinação pode ser usado na presença de concomitantes (quaisquer espécies químicas diferentes do analito, presentes na amostra ou

na solução da amostra) especificando a quantidade (concentração ou massa) que pode causar ou não a interferência. No método de determinação escolhido, essas informações devem ser bem claras. Caso contrário, é necessário validar ou revalidar o método quanto à seletividade/especificidade. Nessa validação, cabe ao químico analítico decidir quais são os potenciais interferentes e testá-los de acordo com a ocorrência nas amostras.

É oportuno observar que, dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento das amostras é a mais crítica. Em geral, é nessa etapa que se cometem mais erros e que se gasta mais tempo. É também a etapa de maior custo. Por isso, as etapas de um procedimento de pré-tratamento de amostra deverão ser sempre consideradas cuidadosamente. Resultados de uma pesquisa relativamente recente e endereçada a laboratórios, que já haviam participado de diversos ensaios de proficiência, permitiram identificar que o preparo de amostras foi a principal causa de resultados inadequados, seguida por erros humanos e problemas com equipamentos.[17] Esses resultados foram destaque do *Analytical Methods Committee* da *Royal Society of Chemistry* em 2013.[18]

e) *Medição*

Trata-se da obtenção de dados analíticos a partir da amostra pré-tratada. O resultado analítico é o valor final da concentração ou a quantidade do analito na amostra. Em geral, esse resultado é obtido a partir de leituras de um medidor (transdutor) que fornece uma medida de alguma quantidade física, como, por exemplo, intensidade de emissão (espectrometrias de emissão atômica ou molecular) ou absorção (espectrometrias de absorção atômica ou molecular) em um determinado comprimento de onda. A quantidade física que contém a informação sobre a concentração do analito é denominada de sinal analítico.

f) *Calibração*

A maneira convencional para se fazer uma calibração em uma análise química é submeter quantidades conhecidas do analito a um método de medida e monitorar as medidas obtidas.

Na sequência analítica, a calibração se refere à obtenção de dados analíticos a partir de padrões para calibração (soluções ou materiais sólidos) preparados adequadamente e, quando possível, com rastreabilidade ao Sistema Internacional

de Unidades (SI). Em espectrometria atômica, por exemplo, as soluções padrão são também denominadas de soluções de referência, a partir das quais se constrói uma curva analítica de calibração ou, simplesmente, curva de calibração. Uma solução de referência contém o analito no mesmo solvente da solução da amostra e, possivelmente, alguns concomitantes em concentrações conhecidas. Uma solução do branco, ou simplesmente branco, é uma solução que intencionalmente não contém o analito, mas que possui, sempre que possível, a mesma composição matricial da solução da amostra. Um branco do solvente é o próprio solvente.

A Figura 1.2 mostra uma sequência analítica, na qual se observa o papel da calibração e as tarefas para validação de métodos e controle de qualidade. Os testes de recuperação (amostras com adição de analito), emprego de materiais de referência apropriados (compatibilidade de matriz com a amostra) e outros materiais (padrões secundários) são atividades operacionais utilizadas no controle de qualidade, incluindo o branco analítico, que é empregado para estimar o limite de detecção.

g) ***Avaliação***

Interpretação dos resultados obtidos a partir das operações feitas em (e) e (f), incluindo o controle de qualidade analítica por um procedimento adequado.

h) ***Ação***

O resultado analítico será usado para uma decisão com respeito ao problema original. Nesse sentido, é importante que o analista seja capaz de traduzir os resultados gerados durante a análise de amostras usando um método validado, em resposta(s) que esteja(m) relacionada(s) com o problema analítico. As características de desempenho do método, estabelecidas durante o processo de validação, contribuem para que a tomada de decisão seja feita com segurança. A repetibilidade e a reprodutibilidade das medidas podem ser usadas para estabelecer se as diferenças entre os resultados são significativas ou não. Os controles de qualidade, baseados nos dados de validação, podem ser usados para confirmar se o método está sob controle e produzindo resultados confiáveis. A estimativa da incerteza das medidas, em consonância com o desempenho do método, permite a expressão do resultado dentro de uma faixa de valores (intervalo de confiança), na qual o valor mais provável (valor considerado verdadeiro) pode ser aceito com determinado nível de confiança

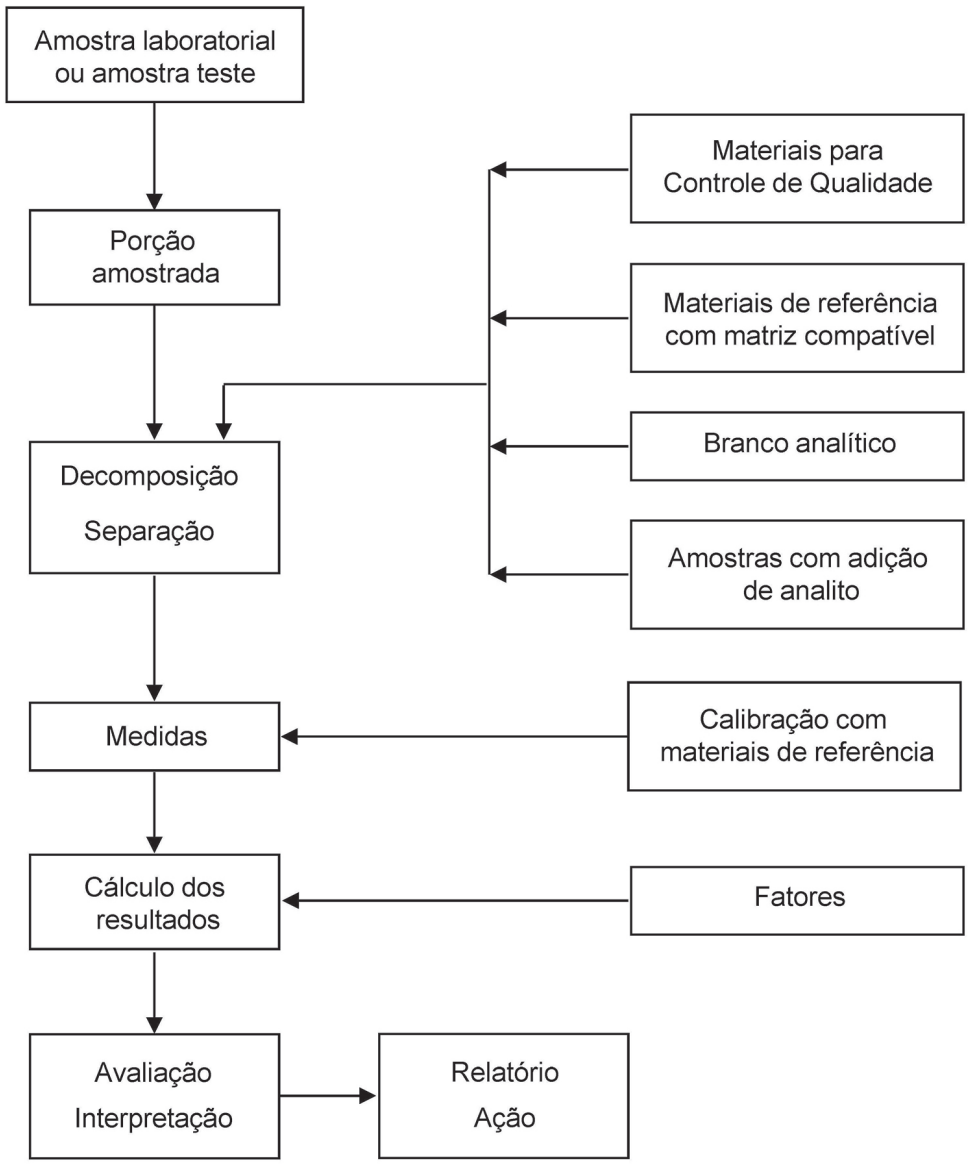

Figura 1.2. Diagrama de uma sequência analítica indicando as etapas e as tarefas para obtenção de resultados com confiabilidade metrológica [adaptado de CITAC/EURACHEM[3]].

(por exemplo, 95%). É importante que o analista sempre tenha acesso aos dados de validação, usados para garantir a qualidade dos resultados.

Observações:

(i) Em análises de rotina, o problema e o método devem ser previamente conhecidos, lembrando que o método deve estar bem estabelecido (devidamente validado);

(ii) Frequentemente a amostragem não é feita pelo analista, mas por outro profissional habilitado. Idealmente, o analista deve sempre participar do processo de amostragem; quando isso não for possível, deverá tomar ciência do processo de amostragem, com descrição detalhada dos materiais utilizados;

(iii) O analista terá sempre que fornecer o resultado analítico, mas nem sempre é requisitado e/ou instruído para tomar uma decisão com respeito à definição do problema analítico. Em alguns casos, as incertezas inerentes ao método escolhido podem impedir e/ou prejudicar tomadas de decisão;

(iv) Em muitos casos, as operações de pré-tratamento de amostras, separação dos constituintes de interesse, controle de qualidade com materiais de referência e interpretação dos resultados e mesmo amostragem podem ser automatizados. Uma ação também pode ser automatizada em um instrumento de controle de processo;

(v) Alguns métodos analíticos são absolutos, como os gravimétricos e os volumétricos, por exemplo, podendo dispensar o uso de padrões ou a curva de calibração envolvendo soluções-padrão (soluções de referência), ou materiais de referência certificados.

1.3. EFICIÊNCIA ANALÍTICA E ROBUSTEZ

Essencialmente, cada método analítico inclui algum tipo de pré-tratamento de amostra e, quase sempre, essa etapa consome a maior parte do trabalho analítico. Assim, quando um método estiver sendo avaliado, seja quanto ao seu desempenho ser adequado ou não para o propósito analítico, seja na comparação com outros métodos, as etapas de pré-tratamento deverão ser cuidadosamente consideradas porque poderão afetar:

i. a precisão das medidas (repetibilidade e reprodutibilidade);
ii. a exatidão dos resultados;
iii. os limites de detecção;
iv. o tempo total e o esforço envolvidos na análise e, consequentemente, o custo.

Em geral, o método selecionado deverá ser executado com o menor número possível de operações de pré-tratamento, desde que seja capaz de fornecer resultados analíticos com a devida confiabilidade metrológica.

Deve-se ter em mente que vários métodos instrumentais, como a espectrometria de fluorescência de raios X (XRF), análise por ativação neutrônica instrumental (INAA), ablação com *laser* em espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (LA-ICP-MS), espectrometria de emissão óptica com excitação por arco ou faísca, espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por *laser* (LIBS), espectrometria de absorção atômica em forno de grafite com amostragem direta de sólidos (SS-GFAAS), exigem pouco ou até dispensam etapas de pré-tratamento das amostras. Assim, esses métodos são, comparativamente, mais eficientes que aqueles que exigem mais etapas de pré-tratamento.

Uma forma de se avaliar quão efetivo é um método analítico é verificar como seu desempenho pode ser afetado, variando-se, deliberadamente, os fatores que possam prejudicar a qualidade dos resultados. Esses fatores são, geralmente, identificados durante o desenvolvimento do método e sua influência sobre o desempenho é avaliada com emprego de testes de robustez. Esses fatores devem ser criteriosamente escolhidos para a correta avaliação da robustez, de tal forma que seja possível identificar as variáveis que podem afetar significativamente o desempenho do método e, ao mesmo tempo, garantir que essas estejam sob controle durante o emprego do método. Geralmente, os testes de robustez são empregados para avaliar os efeitos na precisão e exatidão das medidas, mas outras características de desempenho podem ser avaliadas, como a sensibilidade e o limite de detecção. Um método bem estabelecido para testar a robustez, conhecido como teste de Youden, é descrito pela AOAC.[19]

Todos esses aspectos demonstram a complexidade das tarefas sucessivas tipicamente envolvidas em uma análise química e o grau de especialização requerido para planejá-las e executá-las com sucesso e confiabilidade. Recomenda-se a leitura do guia editado pela CITAC/EURACHEM,[3] que tem como objetivos a orientação para a melhor prática das operações analíticas em um laboratório, além de auxiliar na garantia da qualidade nos laboratórios, explicando o significado dos requisitos de qualidade exigidos para fins de acreditação, certificação ou comprometimento do laboratório.

REFERÊNCIAS

1. KRATOCHVIL, B.; TAYLOR, J. K. Sampling for chemical analysis. **Analytical Chemistry**, 53, 924A-938A, 1981.
2. WOITTIES, J. R. W.; SLOOF, J. E. **Sampling and Sample Preparation**, In: Z. E. Alfassi, **Determination of Trace Elements**, Weinheim: Verlag, 1994, pp. 59-107.
3. CITAC/EURACHEM. **Guide to Quality in Analytical Chemistry. An Aid to Accreditation**. Teddington: CITAC/EURACHEM, 2002. 57 p.
4. ANDERSON, R. **Sample Pretreatment and Separation**. Chichester: John Wiley, 1991. 632 p.
5. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Diário Oficial da União de 18/12/2002, Seção 1, p. 58-59.
6. Ministério da Agricultura, Instrução Normativa n° 27 SDA de 05 de junho de 2006. Diário Oficial da União de 09/06/2006, Seção 1, p. 15.
7. RAMSEY, M. H.; THOMPSON, M. Uncertainty from sampling, in the context of fitness for purpose. **Accreditation and Quality Assurance**, 12, 503-513, 2007.
8. RAMSEY, M. H. Sampling the environment: Twelve key questions that need answers. **Geostandards and Geoanalytical Research**, 28, 251-261, 2004.
9. HORWITZ, W. Nomenclature for sampling in analytical chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, 62, 1193-1208, 1990.
10. BARNES, R. M.; SANTOS JR, D.; KRUG, F. J. **Introduction to Sample Preparation for Trace Element Determination**, In: E. M. M. Flores, Ed., **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**, Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 1-58.
11. PETERSEN, L.; DAHL, C. K.; ESBENSEN, K. H. Representative mass reduction in sampling - a critical survey of techniques and hardware. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 74, 95-114, 2004.
12. GY, P. Sampling of discrete materials - a new introduction to the theory of sampling: I. Qualitative approach. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 74, 7-24, 2004.
13. ESBENSEN, K. H.; RAMSEY, C. A. QC of sampling processes - A first overview: from field to test portion. **Journal of Aoac International**, 98, 282-287, 2015.
14. ESBENSEN, K. H.; WAGNER, C. Theory of sampling (TOS) versus measurement uncertainty (MU) – A call for integration. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 57, 93-106, 2014.
15. ESBENSEN, K. H.; GELADI, P. Principles of proper validation: use and abuse of re-sampling for validation. **Journal of Chemometrics**, 24, 168-187, 2010.

16. ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, A. N. Sampling theory and sampling uncertainty. **Analytical Methods**, 7, 10085-10087, 2015.

17. ELLISON, S. L. R.; HARDCASTLE, W. A. Causes of error in analytical chemistry: results of a web-based survey of proficiency testing participants. **Accreditation and Quality Assurance**, 17, 453-464, 2012.

18. ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, A. N. What causes most errors in chemical analysis? **Analytical Methods**, 5, 2914-2915, 2013.

19. YOUDEN, W. J.; STEINER, E. H. **Statistical Manual of the AOAC**. Arlington, Virginia: Association of Official Analytical Chemists, 1975. 96 p.

Capítulo 2

FUNDAMENTOS DO PREPARO DE AMOSTRAS

Fábio Rodrigo Piovezani Rocha
Joaquim Araújo Nóbrega
Marcos Yassuo Kamogawa

2.1. PREPARO DE AMOSTRA: O QUE SE BUSCA? COMO SE AVALIA A EFICIÊNCIA?

O preparo de amostras envolve operações físicas e químicas para convertê-las em uma forma adequada para introdução no instrumento de medida e para minimizar interferências na quantificação dos elementos de interesse. Apesar de algumas técnicas que possibilitam a análise direta de sólidos (*e.g.* Capítulo 5), a maioria das medidas instrumentais envolve a introdução de amostras como soluções ou suspensões. Esse é o caso, por exemplo, das espectrometrias de absorção atômica, de emissão óptica em chamas e em plasmas e de massas acoplada ao plasma induzido. A discussão aqui apresentada está relacionada à conversão de amostras sólidas em soluções representativas. O preparo e a introdução de suspensões são discutidos no Capítulo 5.

Alguns autores consideram a necessidade de conversão de sólidos em soluções representativas uma desvantagem, devido aos riscos de perdas por volatilização, considerando-se as elevadas temperaturas usualmente envolvidas, e de contaminações decorrentes das etapas de manipulação das amostras. Contudo, tal como demonstrado neste livro, o preparo de amostras visando à análise elementar evoluiu significativamente nas últimas décadas e perdas e contaminações são evitadas usando-se procedimentos em frascos fechados, com monitoramento de pressão e controle de temperatura.

Amostras podem ser classificadas como orgânicas, *i.e.* que apresentam conteúdo expressivo de compostos orgânicos, ou inorgânicas, que se caracterizam pela predominância de compostos metálicos, óxidos, sais e, consequentemente, baixo conteúdo de compostos orgânicos. Além dessa classificação simplificada, que facilita a generalização de estratégias de preparo de amostras, também é interessante diferenciar os processos de dissolução e de digestão. Dissolução envolve a dissociação de compostos sólidos em um meio líquido, tal como no preparo de soluções salinas. Na dissolução de cloreto de sódio em água (solubilidade de 360 g L^{-1} a 25 °C),[1] a energia de retículo cristalino e a energia de solvatação estão envolvidas no processo de conversão do retículo cristalino sólido nos respectivos íons hidratados. As propriedades da água como solvente, particularmente o caráter de dipolo permanente e a elevada constante dielétrica, estão intimamente relacionadas com a estabilização de cátions e ânions em solução. Apenas como comparação, a solubilidade do clore-

to de sódio em etanol, que tem uma constante dielétrica 4 vezes inferior a da água, é de 0,65 g L^{-1} a 25 °C.[1]

Raciocínio análogo pode ser feito sobre a dissolução da sacarose (solubilidade de 2000 g L^{-1} em água a 25 °C),[1] contudo nesse caso não há formação de uma solução iônica. Do ponto de vista experimental, medidas de condutividade elétrica facilmente indicariam a formação de uma solução eletrolítica a partir da dissolução do cloreto de sódio e de uma solução não-eletrolítica a partir da dissolução da sacarose. Essas diferenças de comportamento químico em meio aquoso estão relacionadas às respectivas estruturas químicas; o cloreto de sódio consiste de um retículo cristalino composto por íons sódio e cloreto, enquanto a sacarose envolve um dissacarídeo resultante da combinação dos monossacarídeos glicose e frutose por uma ligação glicosídica. Essa ligação pode ser rompida por hidrólise, gerando os respectivos monossacarídeos; contudo, esse processo é extremamente lento na ausência de enzimas ou de meio ácido, tal como ocorre na digestão promovida fisiologicamente pelo suco gástrico. Esse processo ilustra que a digestão implica em reações químicas que modificam as espécies químicas da amostra. Em condições laboratoriais, processos de digestão normalmente são conduzidos adicionando-se reagentes e aquecendo-se o meio reacional.

Um exercício interessante é considerar o que ocorreria se introduzíssemos uma solução aquosa 1% (m/v) de cloreto de sódio em um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Para avaliar efeitos, teríamos que considerar o sistema de introdução de amostras, tipicamente composto por um nebulizador concêntrico com uma câmara de nebulização ciclônica ou de duplo passo, o plasma de argônio, a posição da tocha de quartzo e a interface de transferência dos sinais de emissão para o policromador. No caso específico, a concentração relativamente alta de sólidos dissolvidos poderia gerar gradual entupimento dos tubos centrais do nebulizador e da tocha, formação de depósitos salinos na tocha, particularmente quando posicionada horizontalmente, e perturbação de equilíbrios envolvendo átomos e respectivos íons no plasma de argônio, devido à alta quantidade de um elemento facilmente ionizável. Todas essas dificuldades experimentais são sanáveis pelo ajuste de condições instrumentais e por simples diluição da solução em água, caso a quantificação dos analitos em menores concentrações não seja prejudicada. Dessa forma, nenhum preparo de amostra se faz necessário.

De forma análoga, podemos considerar a análise de uma solução aquosa 1% (m/v) de sacarose por ICP OES. Eventuais efeitos ocorreriam sobre os mesmos processos e componentes instrumentais supracitados e a gradual formação de depósitos de compostos de carbono sobre o orifício do tubo central da tocha de quartzo causaria gradual entupimento e variação da quantidade de aerossol efetivamente introduzida no plasma de argônio, com consequente perda de repetibilidade. Além disso, a introdução de uma quantidade elevada de compostos orgânicos poderia causar instabilidade do plasma, intensificar a emissão de fundo e perturbar processos de transferência de carga. A literatura discute amplamente esses processos.[2,3] Os efeitos indesejáveis sobre o desempenho instrumental e qualidade dos resultados analíticos poderiam ser evitados pela digestão da amostra que, nesse caso, envolveria a conversão da sacarose a CO_2 e H_2O e a disponibilização dos elementos na forma inorgânica para a determinação por ICP OES.

Nesse contexto, define-se um importante parâmetro para avaliar a eficiência de digestão, o teor de carbono residual (RCC, do Inglês *Residual Carbon Content*), que é calculado a partir dos teores de carbono original da amostra (C_O) e o remanescente após a digestão (C_R), que pode ser determinado, por exemplo, por ICP OES[4] ou ICP-MS[5] (equação 1).

$$\% \text{ RCC} = (C_R / C_O) \times 100 \quad (1)$$

Tal como discutido nos Capítulos 9-12, a eficiência de digestão de amostras orgânicas é estabelecida determinando-se RCC e a acidez residual, que representa a acidez do digerido diluído que será introduzido no instrumento. Esse último parâmetro também é importante na decomposição de amostras inorgânicas e não deve ser superior a 10% (v/v) para a determinação por técnicas espectrométricas atômicas, visando a evitar dificuldades no processo de introdução da solução no atomizador.

2.2. TIPOS DE AMOSTRAS

Conhecer as propriedades físico-químicas da amostra é fundamental para uma decomposição eficiente. Nesse sentido, é importante considerar os diferentes

tipos de sólidos e sua forma estrutural para selecionar o meio e a estratégia de dissolução e/ou digestão.

Sólidos podem ser de quatro tipos: iônicos, moleculares, covalentes e metálicos. O tipo de sólido define-se pela natureza das unidades (átomos, íons ou moléculas) nos pontos reticulares e pelas forças que as mantêm unidas. Suas propriedades físico-químicas dependem também da geometria e da estrutura do retículo cristalino.

Sólidos iônicos são aqueles em que cátions e ânions são unidos por atração eletrostática (*i.e.* ligações iônicas) no retículo cristalino (*e.g.* NaCl, KCl, CaF_2 e CaO). Essa forte ligação proporciona dureza elevada, resistência a distorções do retículo cristalino e altos pontos de fusão. Por outro lado, os sólidos iônicos são quebradiços e suscetíveis à clivagem ao longo do plano reticular, podendo ser moídos para a redução do tamanho das partículas. Em geral, a fusão de sólidos iônicos desarranja o retículo cristalino, o que pode favorecer a ação do solvente e, consequentemente, a dissolução da amostra. Muitos sólidos iônicos são solúveis em solventes polares, como a água, que possuem elevada constante dielétrica. Discussão mais detalhada é apresentada no item 2.4.

Nos sólidos moleculares, os pontos reticulares são ocupados por moléculas, tais como sacarose e celulose. Em cada molécula, os átomos se mantêm unidos por meio de ligações covalentes; as interações intermoleculares ocorrem por forças relativamente fracas, denominadas forças de *van der Waals*, principalmente com interações do tipo dipolo-dipolo e dipolo-dipolo induzido e também por dipolos instantâneos (forças de London) em moléculas apolares. Interações do tipo dipolo-dipolo ocorrem em moléculas em que a distribuição de carga não é uniforme, ou seja, apresentam polos positivos e negativos. O dipolo induzido ocorre em moléculas apolares, por aproximação de uma molécula polar, que produz uma deformação momentânea na nuvem eletrônica da molécula, induzindo uma polarização e, consequentemente, a interação intermolecular.

A decomposição dos sólidos moleculares implica em duas etapas. A primeira envolve as interações intermoleculares, relativamente fracas, demandando pouca energia; trata-se da dissolução do sólido. A segunda etapa requer mais energia para a quebra das ligações covalentes da molécula. Retornando ao exemplo da sacarose, a dissolução dos cristais em água ocorre espontaneamente, mas as moléculas permanecem íntegras em solução, sendo degradadas somente com o uso de

ácidos concentrados e temperaturas elevadas. Todos os materiais biológicos e alguns compostos orgânicos e polímeros se enquadram nesse tipo de sólido.

Sólidos covalentes são aqueles nos quais as unidades nos pontos reticulares são átomos unidos por ligações covalentes (*e.g.* diamante, SiC, SiO_2 e Al_2O_3). Os átomos formam uma rede tridimensional, que se prolonga até os limites físicos do cristal. Por consequência, esse arranjo produz estruturas rígidas, com dureza e ponto de fusão elevados. Em geral, sólidos desse tipo são de difícil dissolução e estratégias como o uso de agentes complexantes, fusão em meio alcalino ou combustão, são usualmente necessárias. Esses processos transformam quimicamente componentes da amostra insolúvel em formas químicas solúveis em água ou em ácidos diluídos.

Nos sólidos metálicos, os retículos são ocupados por íons positivos, tais como os metais Na, Ag, Fe e W. Os cátions nessa estrutura são envoltos por uma nuvem eletrônica que se espalha por todo o retículo, *i.e.* estão deslocalizados por toda a extensão do sólido. A atração mútua entre os elétrons deslocalizados e os cátions mantém a ligação entre os átomos, também conhecida como ligação metálica. Tal atração estabiliza a estrutura e, ao mesmo tempo, permite distorção sem que ocorra o rompimento. Em geral, esses sólidos são insolúveis em água (exceção para redutores fortes, como os metais alcalinos), mas podem ser dissolvidos em ácidos. Conforme discutido no item 2.4, alguns metais dissolvem-se somente em solventes com potencial de redução maior que o do metal, tais como os ácidos nítrico, perclórico ou sulfúrico (a quente), água régia (HNO_3 + HCl) ou agentes oxidantes como peróxido de hidrogênio, persulfatos, peroxissulfatos ou radicais hidroxila.

A solubilidade da amostra dependerá também de parâmetros como o arranjo espacial (cristalino ou amorfo), a pureza do sólido, a espécie química e a sua afinidade pelo solvente. Um sólido com arranjo cristalino apresenta uma estrutura em que as espécies se dispõem espacialmente em uma forma geométrica ordenada. Nesse, a interação do solvente com a amostra é superficial e mais restrita que em um sólido amorfo o qual, devido ao arranjo aleatório e às falhas estruturais, permite que o solvente infiltre no sólido, acelerando a dissolução. Analogia pode ser feita à presença de contaminantes que, em geral, causam desarranjos no retículo cristalino e facilitam a interação sólido-solvente.

A solubilidade dependerá das espécies químicas que compõem o sólido. Íons com raio pequeno e carga elevada normalmente são pouco solúveis (ver discussão no item 2.4). A Tabela 2.1 apresenta a solubilidade de algumas espécies quí-

micas em meio aquoso. As espécies químicas formadas pelos elementos do grupo 1, em geral, são solúveis ou possuem solubilidade moderada em água, independentemente dos ânions a eles ligados. A maioria dos sólidos inorgânicos é solúvel em ácidos; exceções incluem os silicatos e alguns sulfetos. Amostras inorgânicas, como minerais, solos e sedimentos, são formadas pela mistura de sólidos. Por esse motivo, frequentemente, essas são parcialmente dissolvidas (ou decompostas) em uma etapa de preparo da amostra, remanescendo as espécies mais estáveis ou quimicamente inertes ao solvente. Nesses casos, o uso combinado de duas ou mais estratégias de preparo de amostra é fundamental para o sucesso da decomposição.

2.3. REAGENTES TÍPICOS: PROPRIEDADES E EFEITOS

Ao considerar as condições para a promoção de um processo de digestão é preciso avaliar a temperatura, o tempo de aquecimento e os reagentes a serem utilizados. Temperatura é um parâmetro chave e o uso de frascos fechados possibilita o aumento de pressão decorrente da formação de vapores ácidos e produtos gasosos nas reações de decomposição. O benefício do aumento de pressão é o consequente aumento do ponto de ebulição do ácido ou mistura ácida, porém há consequências quanto à periculosidade e à necessidade de frascos com a necessária resistência mecânica. O aumento de temperatura implica em condições mais enérgicas para a promoção de reações químicas sob maior velocidade, conforme discutido na seção 2.4. Além disso, tal como discutido no Capítulo 9, o aquecimento assistido por radiação micro-ondas resulta em um aumento mais gradual de pressão comparativamente ao aquecimento condutivo. Esse efeito ocorre porque a fase gasosa e os materiais usados para construção dos frascos não absorvem apreciavelmente radiação micro-ondas e, dessa forma, o gradiente de temperatura estabelecido possibilita processos de condensação que retardam o aumento de pressão no frasco fechado.

Usualmente, o tempo de aquecimento é um parâmetro menos crítico que a temperatura.[4] Este deve ser suficiente para que toda a massa de amostra seja digerida com eficiência. Contudo, se a temperatura de trabalho não for suficiente para que as energias de ativação de processos químicos sejam superadas, as reações químicas envolvidas na quebra de ligações químicas não ocorrerão.

Tabela 2.1. Sólidos e suas características de solubilidade. Adaptada da referência 1.

Ânion	Solúvel em água	Moderadamente solúvel em água e solúvel em ácido	Insolúvel em água e solúvel em ácido	Moderadamente solúvel em ácido	Insolúvel
Acetato $C_2H_3O_2^-$	Al^{3+}, NH_4^+, Ba^{2+}, Bi^{3+}, Cd^{2+}, Ca^{2+}, Cr^{3+}, Co^{2+}, Au^+, Au^{2+}, H^+, Pb^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Hg^{2+}, Ni^{2+}, K^+, Na^+, Sn^{4+}, Sr^{2+}, Zn^{2+}	Hg_2^{2+}, Ag^+	—	—	—
Carbonato CO_3^{2-}	NH_4^+, Cr^{3+}, K^+, Na^+	Ba^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+}, Sr^{2+}, Zn^{2+}	Cd^{2+}, Co^{2+}, Pb^{2+}, Hg_2^{2+}, Ag^+	—	—
Cloreto Cl^-	Al^{3+}, NH_4^+, Ba^{2+}, Bi^{3+}, Cd^{2+}, Ca^{2+}, Co^{2+}, Au^+, Au^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, H^+, Pb^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Hg^{2+}, Ni^{2+}, K^+, Na^+, Sn^{4+}, Sr^{2+}, Zn^{2+}	Au^+	—	Hg^{2+}, Ag^+	Cr^{3+}
Cromato CrO_4^{2-}	NH_4^+, Ca^{2+}, H^+, Fe^{3+}, Mg^{2+}, K^+, Na^+, Sn^{4+}	Ba^{2+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Pb^{2+}, Ni^{2+}, Sn^{2+},	Hg^+, Hg^{2+}, Ag^+, Sr^{2+}, Zn^{2+}	—	—
Hidróxido OH^-	NH_4^+, Ba^{2+}, Ca^{2+}, Au^+, K^+, Na^+, Sr^{2+}	Pb^{2+}, Sn^{4+}	Al^{3+}, Bi^{3+}, Cd^{2+},Cr^{3+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Au^{3+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Hg^{2+}, Pt^{4+}, Sn^{2+}, Zn^{2+}	—	—
Oxalato $C_2O_4^{2-}$	NH_4^+, H^+, Fe^{3+}, K^+, Na^+	Ba^{2+}, Cd^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Sr^{2+}	Al^{3+}, Bi^{3+}, Ca^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, Pb^{2+}, Hg^{2+}, Ni^{2+}, Sn^{2+}, Zn^{2+}	Hg_2^{2+}, Ag^+	—
Óxido O^{2-}	Ba^{2+}, H^+, K^+, Sr^{2+}	Sb^{3+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Ag^+, Zn^{2+}	Bi^{3+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Au^{3+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Hg^+, Ni^{2+}, Sn^+, Sn^{2+}	Al^{3+}, Cr^{3+}	—
Fosfato PO_4^{3-}	NH_4^+, Fe^{2+}, K^+, Na^+	Ca^{2+}, Cr^{3+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}	Al^{3+}, Ba^{2+}, Bi^{3+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Pb^{2+}, Hg_2^{2+}, Hg^{2+}, Ni^{2+}, Ag^+, Sn^{2+}, Sr^{2+}, Zn^{2+}	—	—
Silicato SiO_3^{2-}	Ba^{2+}, K^+, Na^+,	Ca^{2+}	Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Pb^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+}, Zn^{2+}	—	Al^{3+}, H^+, Mn^{2+}
Sulfato SO_4^{2-}	Al^{3+}, NH_4^+, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Cr^{3+}, Fe^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+}, K^+, Pt^{4+}, Na^+, Sn^{4+}, Sn^{2+}, Zn^{2+}	Ca^{2+}, Fe^{3+}, Pb^{2+}, Hg^+, Ag^+, Sr^{2+}	Sb^{3+}	Ba^{2+}	Cr^{3+}

Tabela 2.1. Sólidos e suas características de solubilidade. Adaptada da referência 1. (cont.)

Ânion	Solúvel em água	Moderadamente solúvel em água e solúvel em ácido	Insolúvel em água e solúvel em ácido	Moderadamente solúvel em ácido	Insolúvel
Sulfeto S^{2-}	NH_4^+, K^+, Na^+, Sr^{2+}	Ca^{2+}	Sb^{3+}, Bi^{3+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, Pb^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+}, Ag^+, Sn^+, Sn^{2+}, Zn^{2+}	—	Au^+, Au^{3+}, Hg_2^{2+}, Hg^{2+}, Pt^{2+}
Tartarato $C_4H_4O_6^{2-}$	NH_4^+, Sb^{3+}, K^+, Na^+, Sr^{2+}	Al^{3+}, Ba^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}	Bi^{3+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, Pb^{2+}, Ni^{2+}, Ag^+, Sn^{2+}, Zn^{2+}	—	Hg_2^{2+}

A escolha dos reagentes pode ser simplificada considerando-se a classificação em amostras orgânicas e inorgânicas, tal como discutido no item 2.1. Deve-se também considerar as propriedades dos ácidos e misturas ácidas mais frequentemente empregados, discutidas em detalhes no Capítulo 7 e aqui brevemente citadas.

Para amostras orgânicas, o aspecto crítico reside no emprego de reagentes para promover a oxidação dos compostos. Tipicamente, temperaturas da ordem de 150 a 220 °C são suficientes para promover digestões eficientes. Essas temperaturas são facilmente atingidas usando ácido nítrico e aquecimento assistido por radiação micro-ondas em frascos fechados (Capítulo 9). A ação oxidante do ácido nítrico aumenta com a temperatura e, portanto, com a pressão interna. No passado, soluções concentradas de ácido nítrico (14 mol L^{-1}) eram comumente usadas. Trabalhos sistemáticos nas últimas duas décadas demonstraram que soluções diluídas de ácido nítrico (*i.e.* da ordem de 2 mol L^{-1}) são eficientes quando se utiliza aquecimento assistido por radiação micro-ondas.[6] Demonstrou-se que esses processos estão relacionados com o gradiente de temperatura e com a presença de oxigênio no frasco reacional, que possibilitam a regeneração do ácido nítrico.[7] Nesse contexto, a adição de peróxido de hidrogênio é importante como fonte de oxigênio pela decomposição sob aquecimento.[8] Essa alternativa torna o uso de ácido perclórico desnecessário e, consequentemente, diminuiu-se acentuadamente a periculosidade dos processos oxidativos de compostos orgânicos. Além disso, ácido nítrico é facilmente produzido com alta pureza (destilação *sub-boiling* é discutida no Capítulo 3) e os menores valores de branco analítico usualmente melhoram os limites de detecção. A viscosidade das soluções diluídas de ácido nítrico é compatível com o processo de geração do aerossol gás-líquido usando um nebulizador pneumático,

convencionalmente empregado em espectrometria atômica. Saliente-se ainda que o ácido nítrico não introduz nenhum elemento químico que já não esteja presente em atomizadores com chama, plasma de argônio ou plasma de nitrogênio.

Por outro lado, a digestão de amostras inorgânicas é mais criticamente dependente da escolha do tipo de ácido ou mistura ácida. Nesse caso, deve-se criteriosamente considerar as propriedades dos ácidos, tais como ponto de ebulição, caráter complexante, caráter oxidante e riscos de passivação e formação de precipitados e, com base nessas características, selecionar o ácido ou a mistura ácida que seja eficiente para promover o processo de digestão. O uso de ácido nítrico é típico sempre que o caráter oxidante é desejável. Ácido perclórico também apresenta forte ação oxidante, porém seu uso tende a ser diminuído considerando-se a elevada periculosidade. O ácido fluorídrico também apresenta acentuada periculosidade, porém ainda é usado quando amostras contendo silicatos ou metais de alta resistência química, tais como Nb, Ti, Zr e W devem ser digeridas. O HF também é efetivo para a digestão de carbetos, nitretos e boretos desses materiais. Alternativamente, essas amostras poderiam ser digeridas usando procedimentos de fusão, conforme discussão no Capítulo 7. O uso de ácido clorídrico frequentemente está relacionado à ação despassivante e complexante dos íons cloreto. O ácido sulfúrico tem o atrativo do alto ponto de ebulição, que é importante para digestões em frascos abertos sob pressão atmosférica; além disso, tem forte ação desidratante e atua como agente oxidante sob altas temperaturas. Contudo, há vários aspectos que exigem especial atenção quando se utiliza este ácido: (1) formação de sais insolúveis, conforme Tabela 2.1; (2) alta viscosidade, que afeta o processo de introdução de amostras em várias técnicas espectroanalíticas e (3) ponto de ebulição significativamente superior à temperatura máxima de trabalho dos materiais usados em frascos reacionais empregados em fornos de micro-ondas. Isso implica que, por questões de segurança, é importante usar um sensor de temperatura e monitorar cuidadosamente esse parâmetro experimental. O emprego de ácido fosfórico é pouco usual, mas esse reagente é útil para algumas aplicações como, por exemplo, a digestão de α-alumina. Tal como mencionado para o ácido sulfúrico, o ácido fosfórico também exige especial atenção com a viscosidade da solução e a formação de sais insolúveis (Tabela 2.1).

Misturas ácidas são usadas em processos de digestão quando as amostras a serem digeridas têm características que demandam a combinação de diferentes propriedades de cada reagente. Alguns exemplos:

(i) Procedimentos clássicos para amostras agronômicas envolvem o uso da mistura dos ácidos nítrico e perclórico. Por razões de segurança, a digestão é iniciada com ácido nítrico e, somente após aquecimento e oxidação de compostos facilmente oxidáveis, adiciona-se ácido perclórico.

(ii) Uma mistura eficiente para a dissolução de aços inoxidáveis é composta por ácido clorídrico 50 % (v/v) com adição de gotas de ácido nítrico concentrado. Muitos metais e ligas metálicas são melhor dissolvidos com solução de ácido nítrico 50 % (v/v), que evita processos de passivação que ocorreriam com o ácido concentrado.

(iii) Uma mistura frequentemente empregada devido à forte ação oxidante é a água régia, HNO_3 + HCl 1:3 (v/v). Nesse caso, ocorre a formação de cloro molecular e de cloreto de nitrosila (NOCl), que são altamente oxidantes e reativos. Água régia invertida, HNO_3 + HCl 3:1 (v/v), é empregada quando a ação complexante do cloreto complementa a ação oxidante do ácido nítrico.

Pelos exemplos citados, evidencia-se que o analista deve considerar os compostos e ligações químicas presentes nos materiais e, consequentemente, quais ácidos e misturas poderiam ser eficientes para promover a digestão ou decomposição da amostra.

2.4. ASPECTOS FÍSICOS E QUÍMICOS QUE AFETAM O PREPARO DE AMOSTRAS

É possível dissolver a amostra em determinadas condições experimentais? Em caso afirmativo, quanto tempo será necessário? Essas duas questões relevantes em relação ao preparo de amostras ilustram que o processo deve ser avaliado dos pontos de vista termodinâmico e cinético. A termodinâmica trata da tendência de ocorrência de processos físico-químicos em determinadas condições experimentais (*e.g.* dissolução de um sólido ou oxidação de matéria orgânica), sem permitir conclusões a respeito da velocidade do processo, foco de estudo da cinética química. Por exemplo, pode-se favorecer um processo de dissolução exotérmico com a diminuição de temperatura, embora dissoluções mais rápidas sejam sempre alcançadas sob temperaturas mais elevadas.[9] Aspectos cinéticos e termodinâmicos estão também diretamente envolvidos em processos de decomposição de amostras.

A seleção de condições experimentais apropriadas é, portanto, decisiva para que um processo de decomposição de amostras seja eficiente e que seja implementado em tempo compatível com a elevada demanda analítica comum à maioria dos laboratórios.

2.4.1. Aspectos termodinâmicos

Um sólido qualquer irá se dissolver se a variação de energia livre de Gibbs de solução for negativa ($\Delta G_S < 0$). A tendência à espontaneidade do processo aumenta caso haja dissipação de energia e dispersão de matéria. No processo, fatores entálpicos (ΔH_S) e entrópicos (ΔS_S), além da temperatura (T), devem ser considerados (equação 2).

$$\Delta G_S = \Delta H_S - T\Delta S_S \quad (2)$$

A entalpia de dissolução corresponde à variação de calor, a pressão constante, associada ao processo de dissolução, que pode ser endotérmico ($\Delta H_S > 0$) ou exotérmico ($\Delta H_S < 0$). Para a dissolução de um sólido inorgânico em água, deve ser considerada[10]:

(1) a energia gasta para separar os íons organizados no retículo cristalino (entalpia de rede ou reticular). Essa energia depende da atração eletrostática entre os íons, sendo diretamente proporcional à carga e inversamente proporcional ao raio iônico. Dessa forma, mais energia é necessária para separar Mg^{2+} de O^{2-} no MgO, do que K^+ e I^- no KI, o que reflete diretamente na solubilidade das espécies. Enquanto somente 6,2 mg MgO se dissolvem em 1 L de água, é possível dissolver *ca.* 1,3 kg de KI no mesmo volume.[1] A força eletrostática atrativa entre os íons também é inversamente proporcional à constante dielétrica (ε_r) do meio, um indicativo da polaridade do solvente que, didaticamente, pode ser considerada a capacidade de atenuar cargas elétricas. Dessa forma, sais inorgânicos são mais solúveis em água (ε_r = 78,54, a 25 °C)[1] que em solventes orgânicos, mesmo os polares, como o etanol (ε_r = 24,30, a 25 °C);[1]

(2) A energia liberada na solvatação dos íons, devido às atrações íon-dipolo (entalpia de hidratação). Outro fator importante é a formação de aquo-com-

plexos, que estabilizam os íons metálicos em solução, aumentando a variação de energia do processo.

Considerando a equação 2, do ponto de vista entálpico, a dissolução tenderá a ser espontânea caso o processo seja exotérmico, ou seja, a energia liberada na hidratação dos íons deve ser superior àquela consumida na separação dos íons do retículo cristalino. Analogamente, a dissolução de espécies orgânicas será favorecida caso as interações soluto-solvente (*e.g.* ligações de hidrogênio com moléculas de água) superem as interações soluto-soluto.

Especialmente no caso da dissolução endotérmica, a espontaneidade depende da variação de entropia associada ao processo e da temperatura, ou seja, o termo $T\Delta S_S$ na equação 2 deve superar a energia consumida no processo (entalpia de rede – entalpia de hidratação). A temperatura é, portanto, um fator decisivo para que a dissolução ocorra, o que justifica o aumento de solubilidade (*e.g.* 86 mg de MgO e *ca.* 2,1 kg KI podem ser dissolvidos em 1 L de água aquecida).[1] É importante ressaltar que o processo de dissolução geralmente envolve aumento de entropia, *i.e.* ocorre dispersão de matéria quando os íons são retirados do retículo cristalino organizado e transferidos para a solução, na qual podem se movimentar livremente (*e.g.* por processos de difusão e convecção). Isso favorece a dissolução dos sólidos. Exceções ocorrem quando as interações soluto-solvente resultam em meios mais organizados que o solvente puro.

À medida que um processo físico-químico espontâneo ocorre, o sistema evolui até a menor energia livre, situação em que $\Delta G^0 = 0$, denominada condição de equilíbrio químico. Isso justifica, por exemplo, a solubilidade limitada de sólidos: na condição de equilíbrio, a taxa de dissolução do sólido se iguala à taxa com que os íons em solução se combinam para formar o sólido, não ocorrendo variação líquida na quantidade dissolvida. Da mesma forma, a tendência de ocorrência de uma reação química diminui à medida que essa se desenvolve, tendendo à condição de equilíbrio químico. Em procedimentos de preparo de amostras, geralmente busca-se maximizar a eficiência do processo (*e.g.* dissolução completa de um sólido ou oxidação completa da matéria orgânica). Buscam-se, portanto, condições experimentais que favoreçam a formação de produtos, *i.e.* em que o estado de equilíbrio seja alcançado com mínima quantidade de reagentes (*e.g.* menor teor de sólidos residuais ou menor quantidade de carbono residual).

Na prática, a avaliação da espontaneidade de reações baseia-se em valores de constantes de equilíbrio (K) a determinadas temperaturas e não em valores de ΔG. Essas grandezas se relacionam de acordo com a equação 3, que indica que a diminuição de ΔG^0 (*i.e.* processo espontâneo) corresponde a valores crescentes de K (nesta equação *R* corresponde à constante dos gases e *T* é a temperatura). Quanto maior o valor de K, maior a quantidade de produto em relação àquela de reagentes, quando a condição de equilíbrio for alcançada. Não há, entretanto, nenhuma correlação com o tempo com que esse estado será alcançado, ou seja, em um processo espontâneo, o estado de equilíbrio pode ser alcançado rápida ou lentamente.

$$\Delta G^0 = - RT \ln K \qquad (3)$$

A constante de equilíbrio depende unicamente da temperatura: o valor de K aumenta com a temperatura em processos endotérmicos e diminui em processos exotérmicos. Consequentemente, em uma dada temperatura, caso a quantidade de reagentes seja aumentada, no equilíbrio, a quantidade de produtos também deverá aumentar para que o valor de K permaneça constante. Essa estratégia, comum em procedimentos de preparo de amostras, resulta no chamado deslocamento de equilíbrio. Em linhas gerais, pode-se dizer que, sob a ação de uma perturbação (*e.g.* aumento de temperatura ou da concentração de reagentes), o sistema irá se ajustar de forma a minimizar o efeito da perturbação (princípio de Le Chatelier). Isso ocorre, por exemplo, com a formação de mais produtos a partir dos reagentes adicionados ou favorecendo uma reação química endotérmica de forma a compensar o aumento de temperatura. A remoção de um produto reacional (*e.g.* a volatilização de uma espécie gasosa) tem um efeito análogo à adição de excesso de reagente. Em sistemas fechados, é também significativo o efeito do aumento da pressão, quando há espécies gasosas (reagentes ou produtos) envolvidas. Nesse caso, o deslocamento de equilíbrio se dará de forma a minimizar o aumento de pressão, ou seja, na direção que propicie o consumo de espécies gasosas.

Constantes de equilíbrio úteis em procedimentos de preparo de amostras são disponíveis na literatura, incluindo constantes de dissociação de ácidos e bases (K_a e K_b), constantes de formação de complexos (K_f) e produtos de solubilidade (K_{ps}).

Nos casos em que a dissolução não é espontânea, usualmente recorre-se a um solvente mais apropriado (*e.g.* solventes orgânicos com polaridade adequada

à solubilização dos solutos) ou à adição de espécies complexantes (no caso de sais inorgânicos e soluções aquosas). Nesse caso: (i) os complexos formados devem ser mais estáveis (maior constante de formação) que os aquo-complexos normalmente presentes em solução; (ii) o processo é favorecido pelo aumento da concentração dos complexantes adicionados, causando o deslocamento de equilíbrio e (iii) o efeito da acidez sobre a formação dos complexos deve ser considerado quando os ligantes são sais de ácidos fracos e para íons metálicos com carga elevada, que tendem a sofrer hidrólise. Como exemplo, em pH apropriado, o MgO pode ser dissolvido em solução aquosa pela adição de um complexante para os íons Mg^{2+}, como EDTA ou 8-hidroxiquinolina. Hidroxo-complexos solúveis podem ser formados com vários íons metálicos, viabilizando diversos procedimentos de dissolução em meio alcalino.[11] Outra utilização frequente de agente complexante no preparo de amostras consiste na dissolução de silicatos com HF (equação 4).

$$SiO_{2(s)} + 6\ HF_{(aq)} \rightarrow H_2SiF_{6(aq)} + 2\ H_2O_{(l)} \quad (4)$$

A acidificação do meio é também uma alternativa para a dissolução quando o ânion do sal a ser dissolvido é a forma conjugada de um ácido fraco. Dissoluções de carbonatos e fosfatos metálicos em meio ácido podem ser citadas como exemplo. Por outro lado, bases ou ácidos orgânicos podem ser convertidos à forma iônica pelo ajuste da acidez do meio (adição de ácidos ou bases, respectivamente) tornando-se, portanto, mais solúveis em meio aquoso.

Reações de óxido-redução (ou redox) estão frequentemente envolvidas no preparo de amostras. Algumas situações típicas são a oxidação de metais, formando íons metálicos solúveis, a alteração do estado de oxidação de íons metálicos e a eliminação de matéria orgânica mediante conversão a CO ou CO_2. Enquanto alguns metais (*e.g.* Zn e Fe) podem ser oxidados diretamente pelo íon H^+, com formação de gás hidrogênio (equação 5), outros (*e.g.* Cu e Ag) requerem o uso de um ácido oxidante (ou de misturas ácidas oxidantes). Por exemplo, com o uso de ácido nítrico, o ânion nitrato (e não o íon H^+) atua como oxidante (equação 6).

$$Zn_{(s)} + 2\ H^+_{(aq)} \rightarrow Zn^{2+}_{(aq)} + H_{2(g)} \quad (5)$$

$$3\ Cu_{(s)} + 8\ H^+_{(aq)} + 2\ NO_3^-{}_{(aq)} \rightarrow 3\ Cu^{2+}_{(aq)} + 2\ NO_{(g)} + 4H_2O_{(l)} \quad (6)$$

O potencial de eletrodo (E) é uma medida da tendência de ocorrência de reações redox. Valores positivos de E referem-se a reações espontâneas, pois correspondem a processos em que a energia livre de Gibbs diminui (equação 7, onde *n* refere-se ao número de elétrons envolvidos no processo e *F* é a constante de Faraday). Da mesma forma, valores positivos de E correspondem a valores positivos de K (equação 8). Valores de potencial de eletrodo em condições padrão (E^0), *i.e.* quando todas as espécies envolvidas estão em suas condições padrão (gases a pressão de 1 bar e concentrações de 1 mol L^{-1}) são disponíveis na literatura (alguns exemplos são listados na Tabela 7.1). Essas tabelas usualmente apresentam os valores de E^0 de semi-reações de redução em relação à redução do íon H^+ (equação 9) que, por convenção, tem $E^0 = 0$. Assim, espécies cujo potencial de redução é negativo (*e.g.* Zn; E^0 (Zn^{2+}/Zn) = -0,76 V) podem ser oxidadas pelo íon H^+. A dissolução de Zn em 1 mol L^{-1} H^+ corresponde a E^0 = +0,76 V e, portanto, a um processo espontâneo. Por outro lado, espécies cujo potencial de redução é positivo (*e.g.* Cu; E^0 (Cu^{2+}/Cu) = +0,34 V) não podem ser oxidadas pelo íon H^+, requerendo um ácido oxidante. A dissolução de Cu em 1 mol L^{-1} H^+ corresponde a E^0 = -0,34 V e, portanto, a um processo não espontâneo. A oxidação pelo ácido nítrico é, entretanto, termodinamicamente favorável, pois o potencial de redução do nitrato em meio ácido supera o potencial de oxidação do Cu (E^0 (NO_3^-/NO) = +0,96 V). Deve-se ressaltar que, usualmente, em procedimentos de preparo de amostras não se trabalha em condições próximas às condições padrão (*e.g.* uso de ácidos concentrados sob altas temperaturas e pressões) e que os valores de E^0 servem apenas como indicativos da tendência de ocorrência das reações. Caso necessário, valores de E em condições diferentes da condição padrão podem ser calculados utilizando-se a equação de Nernst.[10]

$$\Delta G^0 = - nFE \tag{7}$$

$$\ln K = \frac{nFE^0}{RT} \tag{8}$$

$$2\ H^+_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons H_{2(g)} \tag{9}$$

O uso de ácidos oxidantes pode, em alguns casos, resultar na formação de uma camada sobre o material a ser dissolvido (*e.g.* óxido metálico) que impede

a dissolução do metal. Esse processo, denominado passivação, é interessante para impedir a corrosão de ligas metálicas, mas normalmente indesejável no preparo de amostras. A passivação normalmente é evitada utilizando um ácido adequado em concentração apropriada. Alguns metais sofrem passivação em meio de ácidos concentrados, mas não em meio de ácidos diluídos (*e.g.* Fe dissolvido em meio de HNO_3). Mais frequentemente, entretanto, utilizam-se misturas ácidas, normalmente associando ácidos oxidantes e complexantes, esses capazes de evitar a formação da camada protetora sobre o sólido a ser dissolvido.

A possibilidade de reações paralelas, que podem gerar produtos menos reativos, deve também ser considerada em procedimentos de preparo de amostras. Essa situação pode ser exemplificada pela formação de nitrocompostos mais resistentes ao ataque químico pelo uso de HNO_3, inconveniente que pode ser evitado iniciando a oxidação dos compostos com HNO_3 diluído ou H_2SO_4.[12] Outras reações relevantes com reagentes usuais no preparo de amostras são a adição de grupos hidroxila e a formação de compostos insaturados com o uso de peróxido de hidrogênio e ácido sulfúrico concentrado,[12] respectivamente.

2.4.2. Aspectos cinéticos

Considerando-se os valores de potenciais redox, é possível concluir que a dissolução de níquel é termodinamicamente favorável em meio de ácido nítrico (equação 10), com (E^0 = +0,71 V). Entretanto, uma moeda constituída por uma liga metálica a base de níquel pode permanecer por vários dias em contato com uma solução concentrada desse ácido, na prática inviabilizando a dissolução. Por outro lado, a mesma liga será rapidamente dissolvida na forma de limalhas e mediante aquecimento. Esse exemplo ilustra que a velocidade das reações químicas pode ser um limitante de um procedimento de dissolução ou decomposição de amostras e que os parâmetros que influenciam a velocidade devem ser considerados no planejamento experimental.

$$3\ Ni_{(s)} + 8\ H^+_{(aq)} + 2\ NO_{3\ (aq)}^- \rightarrow 3\ Ni^{2+}_{(aq)} + 2\ NO_{(g)} + 4H_2O_{(l)} \qquad (10)$$

De acordo com a teoria das colisões,[10] uma das mais utilizadas em estudos de cinética química, a ocorrência de uma dada reação química requer a colisão

entre as espécies reagentes, que devem ter energia cinética adequada e colidirem com uma orientação apropriada para o rearranjo dos átomos necessário à formação dos produtos. Para reações em solução, a frequência de colisões e, portanto, a velocidade das reações é diretamente proporcional às concentrações dos reagentes, o que justifica o uso de largo excesso de reagentes (*e.g.* ácidos concentrados) em procedimentos de preparo de amostras. Da mesma forma, a dissolução de sólidos é favorecida pela diminuição do tamanho de partícula, que resulta no aumento da área superficial, justificando a necessidade de moagem de amostras previamente à decomposição.

A ocorrência das reações requer que uma barreira de energia, denominada energia de ativação (E_a), seja superada. Baixas energias de ativação tendem, portanto, a resultar em reações químicas rápidas. A uma dada temperatura, a energia das espécies em solução varia significativamente. De acordo com a distribuição de Boltzmann, há poucas espécies com energia cinética baixa ou alta e a maioria apresenta energia cinética intermediária, similar a uma curva Gaussiana. A energia cinética média das espécies reagentes aumenta com a temperatura, fazendo com que mais espécies possam colidir efetivamente resultando na formação dos produtos. Dessa forma, aquecimento é frequentemente empregado em procedimentos de preparo de amostras e o uso de frascos fechados tem como uma das vantagens permitir que maiores temperaturas sejam atingidas mediante aumento de pressão.

Outra alternativa experimental para aumentar a velocidade de reações consiste na adição de catalisadores, que possibilitam uma via alternativa (com menor E_a) para a formação dos produtos. Um exemplo dessa estratégia em procedimentos de preparo de amostras consiste no uso de Se ou sais de cobre em procedimentos de digestão Kjeldahl para a determinação de espécies nitrogenadas. Por se tratar de um efeito cinético (e não termodinâmico), a adição de catalisadores não altera a constante de equilíbrio.

Os efeitos dos aspectos discutidos anteriormente podem ser matematicamente expressos através da equação de Arrhenius (equação 11), sendo os termos k, R e T correspondentes à constante de velocidade da reação, constante dos gases e temperatura, respectivamente. O termo A, denominado fator de frequência, depende da frequência de colisões de espécies com orientação adequada, enquanto o termo exponencial ($e^{-Ea/RT}$) corresponde à fração de espécies com energia superior à energia de ativação. De acordo com a equação de Arrhenius, um aumento de

temperatura de 10 °C pode dobrar a velocidade de reação, resultando em procedimentos de decomposição de amostras significativamente mais rápidos.

$$k = A\, e^{-Ea/RT} \qquad (11)$$

Outro aspecto cinético importante é a labilidade e inércia de reações de complexação. Complexos inertes são aqueles em que a troca de ligantes, apesar de termodinamicamente favorável, ocorre lentamente. O efeito é típico para complexos de Cr(III) e Co(III). Por exemplo, embora a formação de aquo-complexos de Co(III), a partir do hexa-aminocobalto (III), em meio ácido (equação 12), seja termodinamicamente favorável ($K_f = 1{,}0 \times 10^{25}$), o amino-complexo pode permanecer durante dias em meio ácido sem sofrer qualquer alteração perceptível. Outro exemplo típico é a formação de complexos de Cr(III) com EDTA. Apesar de termodinamicamente favorável ($K_f = 1{,}0 \times 10^{23}$), a troca de ligantes do aquo-complexo $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$ pelo EDTA é, usualmente, bastante lenta, indicando a inércia do aquo-complexo. A velocidade da reação pode ser consideravelmente aumentada, por exemplo, em meio de bicarbonato (pH 5,3-6,0) ou reduzindo o íon $Cr_2O_7^{2-}$ na presença do ligante, demonstrando a influência marcante das condições experimentais sobre a cinética reacional. Por outro lado, complexos lábeis são aqueles em que a substituição de ligantes ocorre rapidamente, nos casos em que a reação é termodinamicamente favorável.

$$[Co(NH_3)_6]^{3+}_{(aq)} + 6\, H_3O^+_{(aq)} \rightleftharpoons [Co(H_2O)_6]^{3+}_{(aq)} + 6\, NH_4^+{}_{(aq)} \qquad (12)$$

2.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A escolha de um procedimento adequado de preparo de amostras deve ser embasada nas características da amostra (incluindo a reatividade da matriz e dos analitos de interesse), das alternativas experimentais disponíveis e da técnica instrumental a ser utilizada na detecção posterior. Por vezes, a proposta de um novo procedimento ou alterações naqueles já existentes, mesmo que pequenas, podem não ser bem sucedidas. Aspectos críticos incluem a decomposição incompleta, a perda de analitos por volatilização ou adsorção nas paredes dos recipientes e a formação de

sólidos insolúveis. A escolha inadequada das condições experimentais pode, inclusive, colocar em risco a segurança do analista, por exemplo, causando explosões quando o processo envolve reações altamente exotérmicas e aumento significativo de pressão. O analista deve, portanto, conhecer os efeitos de parâmetros experimentais que afetam a eficiência de decomposição e a velocidade com que os processos químicos ocorrem. Enquanto a conversão química dos analitos é frequentemente desejável (*e.g.* alteração de estado de oxidação e formação de complexos metálicos), em algumas situações, condições especiais devem ser definidas para evitar, ou ao menos minimizar, esse processo (*e.g.* procedimentos para a análise de especiação química). Isso somente é possível a partir do conhecimento profundo e abrangente dos processos envolvidos. Os capítulos subsequentes deste livro apresentam os fundamentos dos processos, assim como a avaliação crítica da aplicabilidade analítica e limitações.

REFERÊNCIAS

1. HAYNES, W. M. Ed. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**, 96th Edition, Boca Raton: CRC Press, 2015. Disponível em http://www.hbcpnetbase.com, acessado em maio/2016.
2. GRINDLAY, G.; MORA, J.; LOOS-VOLLEBREGT, M.; VANHAECKE, F. A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 86, 42-49, 2013.
3. WILTSCHE, H.; WINKLER, M.; TIRK, P. Matrix effects of carbon and bromine in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 2223-2234, 2015.
4. GOUVEIA, S. T.; SILVA, F. V.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations. **Analytica Chimica Acta**, 445, 269-275, 2001.
5. AMARAL, C. D. B.; AMAIS, R. S.; FIALHO, L. L.; SCHIAVO, D.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Determination of carbon in digested samples and amino acids by inductively coupled plasma tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, 122, 29-32, 2015.
6. ARAÚJO, G. C. L.; GONZALEZ, M. H.; FERREIRA, A. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, 57, 2121-2132, 2002.

7. BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; GARCIA, E. E.; NÓBREGA, J. A. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, 99, 193-196, 2011.

8. BIZZI, C. A.; FLORES, E. L. M.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, J. S. S.; SCHMIDT, L.; MORTARI, S. R. Evaluation of a digestion procedure based on the use of diluted nitric acid solutions and H_2O_2 for the multielement determination of whole milk powder and bovine liver by ICP-based techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 332-338, 2014.

9. PEREIRA, M. P. B. A. Equilíbrio químico. Dificuldades de aprendizagem. I – Revisão de opiniões não apoiadas por pesquisa. **Química Nova**, 12, 76-81, 1989.

10. KOTZ, J. C.; TREICHEL, P. M.; TOWNSEND, J.; TREICHEL, D. A. **Chemistry and Chemical Reactivity**, 9th Edition, Stamford: Cengage Learning, 2015.

11. NÓBREGA, J. A.; SANTOS, M. C.; DE SOUSA, R. A.; CADORE, S.; BARNES, R. M.; TATRO, M. Sample preparation in alkaline media. **Spectrochimica Acta Part B**, 61, 465-495, 2006.

12. GORSUCH, T. T. **The destruction of organic matter**. Oxford: Pergamon Press, 1970. 152 p.

Capítulo 3

ERROS SISTEMÁTICOS NO PREPARO DE AMOSTRAS

Dário Santos Junior
Joaquim Araújo Nóbrega
Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho
Francisco José Krug

3.1. INTRODUÇÃO

A evolução das técnicas espectroanalíticas possibilitou a determinação de elementos químicos em baixas concentrações (μg kg^{-1} a pg kg^{-1}), o que contribuiu, substancialmente, para a caracterização e desenvolvimento de novos materiais, assim como aplicações nas áreas de toxicologia, agricultura, medicina, biologia, química forense, entre outras. Entretanto, essas técnicas geralmente requerem a introdução das amostras na forma de soluções e essa necessidade originou uma das ironias da espectrometria analítica moderna, pois, embora seja possível a determinação simultânea de muitos elementos com excelente sensibilidade, em tempos inferiores a 1 min, a conversão da amostra sólida em uma solução representativa pode levar de 5 min a 48 h, dependendo da complexidade da matriz. Os tratamentos podem envolver uma transformação substancial do analito para uma forma apropriada à aplicação do método de determinação escolhido e dependem da natureza da amostra, do elemento a ser determinado e sua concentração, da precisão e da exatidão desejadas. Após três décadas de pesquisas e avanços na instrumentação comercial, existe um consenso de que as etapas de preparo de amostras são responsáveis pelo maior custo e constituem a maior fonte de erros na sequência analítica.

Segundo Tölg e Tschöpel,[1] os erros denominados sistemáticos são devidos, principalmente, à insuficiente qualificação dos analistas e/ou à inadequada infraestrutura laboratorial, tornando impossível o estabelecimento de estratégias para aprimorar o desempenho de um método analítico. A primeira afirmação já fora colocada de forma mais contundente por Abbey,[2] em trabalho que destacava a importância da formação de recursos humanos qualificados mais do que o método e a instrumentação, quando afirmou que *"A confiabilidade de um resultado depende mais de quem o produz do que como* é *obtido. Não existem maus métodos, mas apenas maus analistas que não atentam para suas próprias limitações"*.[2] Cabe ressaltar que essa frase foi oportunamente mencionada pelo Professor Paschoal Senise, no histórico artigo intitulado "A química analítica na formação do químico" publicado na revista Química Nova.[3]

A infraestrutura laboratorial poderá ser particularmente crítica para a determinação elementar de baixas concentrações. A preocupação torna-se mais evidente quando se pretende determinar analitos com frações de massa da ordem de μg g^{-1} e aumenta, consideravelmente, com a diminuição da quantidade absoluta a

ser determinada. No fim da década de 1970, um dos principais motivos do insucesso da implementação da espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) foram os altos valores dos brancos analíticos. Em GFAAS, é comum a determinação de massas da ordem de picogramas.

De qualquer forma, esse assunto vem sempre à tona quando os resultados analíticos apresentam erros não toleráveis e/ou quando são acompanhados de incertezas que impeçam tomadas de decisão. Supõe-se que o analista possua as ferramentas metrológicas necessárias para impedir que falsos resultados (positivos ou negativos) sejam emitidos. A importância da qualidade do resultado analítico pode ser colocada de outra forma: os prejuizos causados por resultados errados são usualmente maiores que os investimentos na instrumentação analítica.

Esse aspecto fica evidente quando se analisam os resultados obtidos pelo IMEP (*International Measurement Evaluation Program*) em uma série de artigos liderados por Paul De Bièvre, renomado cientista do IRMM (*Institute for Reference Materials and Measurements*) na União Europeia. O IMEP é um projeto do IRMM, em cooperação com o NIST (*National Institute of Standards and Technology*), com o objetivo de aumentar a confiabilidade das medições em química sob os auspícios da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), EUROMET (*Association of European Institutes for Metrology*), CITAC (*Cooperation for International Traceability in Analytical Chemistry*) e EURACHEM.

No artigo de Lamberty *et al.*,[4] referente ao IMEP 3, os resultados das determinações de 10 elementos em águas foram apresentados por 155 participantes. Ao agrupá-los em função dos métodos utilizados (ICP OES, ICP-MS, FAAS, GFAAS, por exemplo), observaram-se resultados imprecisos e inexatos, independentemente dos métodos usados. Os resultados mais contraditórios foram observados na determinação de ferro. No artigo de Van Nevel *et al.*,[5] referente ao IMEP 6, merece menção que resultados inexatos e imprecisos também foram obtidos por laboratórios acreditados, certificados ou autorizados, quando se determinou chumbo em águas. Esses resultados não surpreendem quando se recorre aos trabalhos de Tölg e Tschöpel.[1] Segundo esses autores, as dificuldades são maiores para a determinação de elementos que ocorrem em altas concentrações na crosta terrestre, como Si, Al, Fe, Ca, Mg, Na, K, Mn e Ti, mas encontrados a nível de traços nas amostras. Isso ocorre porque esses elementos estão sempre presentes no ambiente de trabalho, principalmente na forma de poeira. Dificuldades também são comuns na determi-

nação de elementos que contaminam o ambiente de trabalho como resultado da poluição antrópica (Zn, Pb, Cd, Hg, Cu, As, Ni, por exemplo).

As mais importantes fontes de erros sistemáticos podem ser agrupadas nas diferentes etapas da sequência analítica:[1]

a) Amostragem inapropriada, homogeneização e armazenamento inadequados da amostra;
b) Contaminação da amostra e/ou solução da amostra por aparelhos, frascos, reagentes e poeira durante o procedimento analítico;
c) Efeitos de adsorção e dessorção nas paredes internas dos frascos e fases sólidas de diferentes materiais (filtros, colunas e precipitados);
d) Perdas de elementos (Hg, As, Se, Cd e Zn) ou seus compostos (óxidos, haletos e hidretos) por volatilização;
e) Reações químicas incompletas ou indesejáveis, como mudança do estado de oxidação, precipitação, troca iônica e formação de complexos;
f) Influências da matriz na geração do(s) sinal(is) analítico(s), como atomização incompleta e interferências espectrais;
g) Calibração e avaliação incorretas, resultantes do uso de padrões inapropriados, soluções-padrão instáveis e funções matemáticas inapropriadas, por exemplo.

Além disso, no caso da determinação de elementos-traço em águas naturais, fatores relacionados à amostragem (*e.g.* profundidade e dispositivos de coleta), armazenamento (*e.g.* tipo de frascos), preservação (*e.g.* pH) e outros pré-tratamentos como filtração e pré-concentração, por exemplo, devem ser cuidadosamente selecionados para se obter resultados confiáveis e metrologicamente corretos.[6] Em meados da década de 1970, Sturgeon *et al.*[6] observaram diminuições apreciáveis (de 1 a 3 ordens de grandeza) nos níveis basais de alguns elementos-traço (*e.g.* Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb e Zn) em águas oceânicas e lacustres em relação aos resultados reportados em trabalhos de anos anteriores. Essa diminuição nas concentrações desses elementos não reflete um fenômeno natural nos referidos compartimentos aquáticos, mas sim os avanços no controle de contaminação durante toda a sequência analítica, ou seja, desde o momento da coleta das amostras até a medição instrumental propriamente dita. A maioria dos avanços, tanto na instrumentação disponível, quanto nos métodos e técnicas de separação e pré-concentração, aliados

à eliminação e/ou ao controle das fontes de contaminação durante a amostragem, armazenamento e análise química, foram determinantes para melhorar a qualidade metrológica dos resultados analíticos e, consequentemente, a qualidade dos ensaios de comparação interlaboratoriais.[6]

Apesar deste capítulo ter como objetivo a cultura da qualidade analítica a partir do conhecimento das fontes de erros e de como evitá-los durante o preparo das amostras no laboratório, muitas informações são úteis para a amostragem primária. Sempre que uma amostra primária é coletada, processada e manuseada, esta é suscetível aos efeitos causados por fontes potenciais de erros. Erros causados na amostragem primária e no preparo de sub-amostras afetam tanto a exatidão dos resultados como a reprodutibilidade dos mesmos e são, em geral, significativamente maiores do que os observados na amostragem secundária, que é geralmente feita no laboratório. Esses erros não serão tratados neste livro, mas sugere-se a leitura de artigos de Pierre Gy,[7] Kay Esbensen,[8-10] e Michael H. Ramsey,[11] que também contemplam extensa bibliografia sobre esse tema.

No entanto, devem-se estabelecer protocolos de controle de qualidade (CQ) que sejam capazes de identificar, estimar e minimizar erros e incertezas oriundos dos processos de amostragem e de pré-tratamento das amostras. Vários protocolos de CQ podem ser implementados em um laboratório analítico, principalmente aqueles destinados a avaliar a reprodutibilidade da amostragem e do pré-tratamento das amostras, assim como as possibilidades de contaminação. Em todos os casos, a repetibilidade das medições pode ser um bom indicador da presença desses erros.[8]

O diagrama de blocos da Figura 3.1 mostra as principais fontes de erros nas etapas de uma sequência analítica, partindo de amostras recebidas no laboratório.

3.2. O BRANCO ANALÍTICO

> *The analytical blank may be considered the "Achilles'heel" of trace analysis. As the Greek warrior of Homers's Iliad had his vulnerable point, so also does trace analysis in that size and variability of the analytical blank may render useless the information from the analysis.*
>
> *Thomas Murphy, 1976*

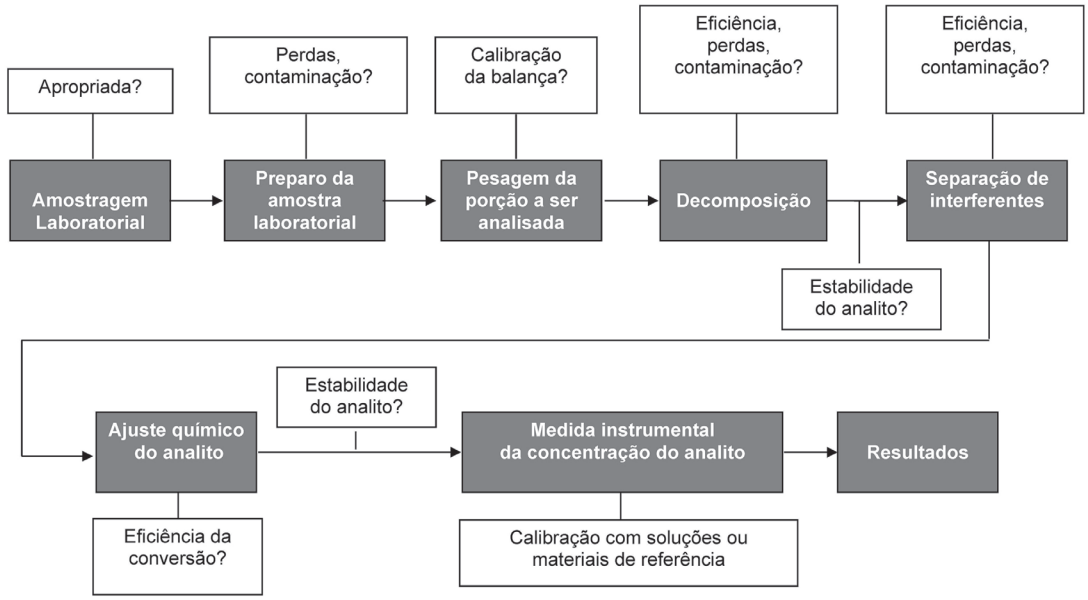

Figura 3.1. Erros e incertezas na sequência analítica. Adaptada da referência 12.

O branco analítico é, reconhecidamente, o "calcanhar de *Aquilles*" da análise de traços. Isso foi destacado por Thomas Murphy na histórica monografia "*The Role of Analytical Blank in Accurate Trace Analysis*", que está disponível em um compêndio de trabalhos do livro "*Accuracy in Trace Analysis: Sampling, Sample Handling, and Analysis*", editado pelo NBS (*National Bureau of Standards*), hoje NIST (*National Institute of Standards and Technology*).[13] Não obstante, é possível a obtenção de brancos que não comprometam os resultados analíticos, a partir dos princípios e práticas que regem a cultura de qualidade nos laboratórios. O livro "*Think Blank*",[14] por exemplo, mostra os muitos benefícios que podem ser obtidos com a implementação de práticas modernas para a diminuição de brancos utilizando equipamentos de última geração.

Segundo Murphy,[13] "o branco analítico é simplesmente a contaminação pelo elemento ou composto, que está sendo determinado, causada por todas as fontes externas à amostra". Uma amostra deve ser analisada em um número apropriado de repetições (n medidas), de tal forma que o resultado encontrado seja expresso como a média das n medidas (m_{am}) acompanhada de uma incerteza, que é, geralmente, equivalente à estimativa de 1 desvio-padrão (s_{am}), ou seja,

$$m_{am} \pm s_{am}$$

Na química analítica, com particular atenção para a determinação de elementos-traço, o resultado final da análise deverá considerar o valor do branco. Quando se manipulam soluções, o branco analítico é a solução resultante de todas as etapas do procedimento analítico na ausência da amostra. Em geral, o branco é mais afetado na etapa de preparo da amostra, devido aos riscos de contaminações.

Seguindo o mesmo raciocínio, o branco deverá ser medido com *n* repetições e o resultado será uma média (m_{br}) acompanhada do respectivo desvio-padrão (s_{br}):

$$m_{br} \pm s_{br}$$

O resultado final será a diferença dessas médias acompanhada do desvio-padrão que é a raiz quadrada da soma dos quadrados dos desvios-padrão das medidas da amostra e do branco:

$$(m_{am} - m_{br}) \pm (s_{am}^2 + s_{br}^2)^{1/2}$$

Os exemplos da Tabela 3.1 mostram como o valor do branco pode comprometer a qualidade de um resultado. No caso 1, a incerteza das medidas do branco é refletida totalmente no resultado final, ao passo que no caso 2, a incerteza do resultado final reflete as incertezas das medidas da amostra e do branco.

Tabela 3.1. Exemplos da propagação da incerteza das medidas do branco no resultado final da determinação de um analito. Adaptada da referência 15.

	Amostra	**Branco**	**Resultado final**
	$m_{am} \pm s_{am}$	$m_{br} \pm s_{br}$	$(m_{am} - m_{br}) \pm (s_{am}^2 + s_{br}^2)^{1/2}$
Caso 1	15 ± 1	5 ± 5	10 ± 5
Caso 2	15 ± 1	2 ± 1	13,0 ± 1,4

Assim, é possível diminuir o valor e a variabilidade do branco analítico e melhorar a exatidão e precisão dos resultados, com o controle das fontes de contaminação externa e corrigindo-se as medidas devidamente. Para atingir esses objetivos, o analista deverá atentar para:

a) a qualidade do ar do laboratório;
b) a pureza dos reagentes (nos quais o solvente, geralmente água, está incluído);
c) a qualidade dos materiais, equipamentos e/ou acessórios;
d) os efeitos causados por si próprio (suor, pele, cabelo, cosméticos, vestuário e adereços metálicos).

É muito raro os brancos serem preparados nas mesmas condições da amostra. A maior dificuldade está na etapa de amostragem e no preparo da amostra laboratorial pois, idealmente, se a amostra for um sólido, o branco deveria ser obtido a partir de uma amostra sólida com características similares, mas que não contivesse o analito, processada segundo o mesmo procedimento analítico.

No caso de sólidos orgânicos, a amostra pode, em alguns casos, ser substituída por celulose de alta pureza, coletada e moída nas mesmas condições das amostras. Para sólidos inorgânicos, uma possibilidade é utilizar quartzo de alta pureza como branco, mantendo-se as mesmas condições de moagem e homogeneização, mas levando-se em conta a dureza dos constituintes da amostra. A solução resultante do pré-tratamento do branco deverá ser armazenada nas mesmas condições da amostra. Por exemplo, se uma amostra de água for filtrada através de membrana de acetato de celulose para um frasco de polietileno e acidificada com 1,0 mL HNO_3 concentrado por litro de amostra, o branco deverá ser obtido com água de alta pureza, seguindo-se o mesmo procedimento de filtração, acidificação e armazenamento.

Determinar o valor do branco é imprescindível para a obtenção de resultados com confiabilidade metrológica, incluindo-se o limite de detecção. Para a estimativa dos limites de detecção por técnicas espectroanalíticas, por exemplo, a IUPAC recomenda, no mínimo, 20 medições instrumentais de uma solução do branco. Idealmente, esse procedimento deverá ser realizado sempre que o instrumento for utilizado. A estimativa do desvio-padrão das medidas instrumentais da solução desse branco não engloba a incerteza causada por erros nas diversas etapas da sequência analítica dentro do laboratório. Essa poderá ser estimada, decompondo-se a amostra do branco (por exemplo, celulose ou quartzo) com, no mínimo, 3 repetições. Isso é perfeitamente factível em sistemas de decomposição que possibilitam processar acima de 20 amostras simultaneamente.

Os erros sistemáticos serão aqui tratados obedecendo-se a seguinte sequência, conforme sugestão de Knapp:[16]

- Erros devidos à contaminação pelo ar e por impurezas em reagentes e materiais;
- Erros devidos às perdas de elementos por volatilização ou adsorção;
- Erros devidos à decomposição/dissolução incompleta das amostras.

3.3. ERROS POR CONTAMINAÇÃO

3.3.1. Contaminação pelo ar

A contaminação pelo ar é a principal responsável por altos valores dos brancos analíticos. Os principais contaminantes presentes nas poeiras de origem geológica, predominantemente solos, são Si, Al, Fe, Ca, Mg, Na, K e Ti. Poeiras metalúrgicas apresentam elevados teores de Fe. Segundo Tölg e Tschöpel,[1] a atmosfera de áreas densamente povoadas apresenta elementos como V, Zn, Ni, Co, Mn Pb, Cr, Cu e F, em concentrações maiores que 0,1 μg m^{-3}, além de S e Cl. A Figura 3.2 mostra os principais materiais contaminantes que podem estar presentes no ar.

A atmosfera do laboratório poderá apresentar partículas provenientes das paredes, da pintura, do piso, do mobiliário, dos equipamentos, das vestimentas e do próprio analista. Essas partículas, quando em contato com as amostras, poderão provocar contaminações severas. Em alguns casos, a prevenção contra a contaminação poderá ser bastante efetiva com um investimento relativamente pequeno, ou utilizando sistemas fechados para o preparo das amostras e das soluções. Segundo Tschöpel,[17] o mínimo que se deve ter à disposição é uma capela de fluxo laminar, pois, mesmo em um corredor, a atmosfera no interior desta capela é melhor do que dentro de um laboratório sem nenhum tratamento do ar. Entretanto, recomenda-se trabalhar em áreas limpas para evitar e/ou controlar a contaminação pelo ar. A classe de limpeza dessas áreas era projetada em função do número máximo de partículas de 0,5 μm $pé^{-3}$. Um ambiente com Classe de Limpeza 100, ou simplesmente Classe 100, apresenta, no máximo, 100 partículas de 0,5 μm $pé^{-3}$. Essa classificação baseava-se no US Federal Standard 209E (Tabela 3.2), que foi posteriormente

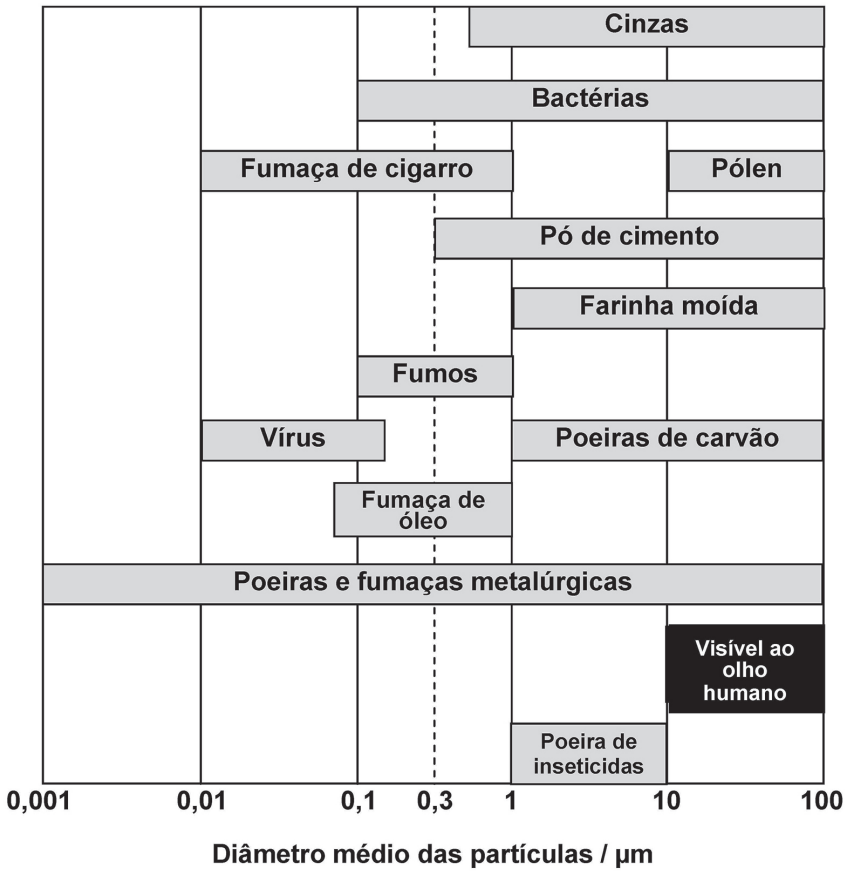

Figura 3.2. Tamanho dos principais contaminantes do ar. Observar a indicação para filtros HEPA (eficiência de 99,97% para partículas ≥ 0,3 µm). Adaptada da referência 13.

Tabela 3.2. Número máximo de partículas por pé cúbico de ar, segundo a antiga norma americana FS-209E "*Airborne Particulate Cleanliness Classes in Cleanrooms and Clean Zones*".

Classe	Tamanho da partícula				
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	5,0 µm
1	35	7.5	3	1	
10	350	75	30	10	
100		750	300	100	
1000				1000	7
10000				10000	70
100000				100000	700

substituída pela FS-209E, a qual incorpora o sistema métrico, onde a Classe 100 corresponde a, no máximo, 3520 partículas de 0,5 µm m^{-3}.

Atualmente, os padrões de limpeza das salas limpas baseiam-se na ISO 14644-1 "*Classification of Air Clea*nliness" (Tabela 3.3), que utiliza o sistema métrico, e as classes se baseiam no resultado da equação 1:

$$C_n = 10^N (0,1 / D)^{2,08} \quad (1)$$

onde:
C_n = número máximo permitido de partículas por metro cúbico igual ou maior que o tamanho especificado da partícula, arredondado para um número inteiro;
N = é número da Classe ISO, que deve ser um múltiplo de 0,1 e ser ≤ 9;
D = é o diâmetro da partícula em µm.

Tabela 3.3. Classes ISO de limpeza de acordo com a ISO 14644-1 "Classification of Air Cleanliness".

Classe ISO	Número máximo de partículas no ar (partículas por metro cúbico iguais ou maiores que o tamanho especificado)					
	Tamanho das partículas					
	> 0,1 µm	> 0,2 µm	> 0,3 µm	> 0,5 µm	> 1 µm	> 5 µm
ISO Classe 1	10	2				
ISO Classe 2	100	24	10	4		
ISO Classe 3	1000	237	102	35	8	
ISO Classe 4[a]	10000	2370	1020	352	83	
ISO Classe 5[b]	100000	23700	10200	3520	832	29
ISO Classe 6[c]	1000000	237000	102000	35200	8320	293
ISO Classe 7[d]				352000	83200	2930
ISO Classe 8				3520000	832000	29300
ISO Classe 9				35200000	8320000	293000

[a] Classe 10 (USFS 209); [b] Classe 100 (USFS 209); [c] Classe 1000 (USFS 209); [d] Classe 10000 (USFS 209)

Apesar da ISO 14644-1, ainda é bastante comum ouvir as expressões Classe 10, Classe 100, Classe 1000 e Classe 10000. Sobre esse assunto, sugere-se a leitura do trabalho de Benett,[18] que versa justamente sobre o impacto dessa norma ISO e a classificação antiga. É oportuno mencionar que o *U.S. General Services Administration* cancelou a norma FS-209E em 29 de novembro de 2001 com o

título "*Notice of Cancellation for FED-STD-209E, Airborne Particulate Cleanliness Classes in Cleanrooms and Clean Zones*".

Como já foi afirmado, a maneira mais eficiente e conveniente de controlar as contaminações pelo ar é realizar o preparo da amostra e das soluções em uma sala limpa. Por definição, uma sala limpa é uma área hermeticamente isolada da atmosfera externa, onde ar previamente filtrado por um filtro ou conjunto de filtros primários, refrigerado e convenientemente desumidificado, é introduzido por um sistema de insuflamento. O insuflamento é feito de tal forma que a pressão no interior da sala seja positiva com referência à pressão externa, e que o ar pré-tratado seja introduzido na sala limpa através de filtros especiais, denominados filtros HEPA (acrônimo do inglês *High Efficiency Particulate Air filters*). A Figura 3.3 mostra um esquema de sala limpa desenvolvida para o Laboratório de Análise de Materiais de Alta Pureza do *Max-Planck-Institut für Metallfforschung*, em Dortmund, Alemanha. Apesar desse laboratório ter sido desativado há alguns anos, ele foi uma referência para muitos laboratórios de vários centros de pesquisa. Deve-se notar, nesse esquema, que é possível trabalhar com capela de exaustão, através da qual também flui ar de alta pureza com insuflamento através de filtro HEPA. O ar que flui através dessa capela não pode ser recirculado por causa dos gases tóxicos e corrosivos provenientes das decomposições e/ou dissoluções das amostras com ácidos concentrados.

Na sala limpa proposta por Tölg e Tschöpel[1] é possível obter um ambiente Classe 10000 (ISO Classe 7) na área de circulação interna e Classe 100 (ISO Classe 5) no interior da capela de exaustão. Para se ter uma ideia do significado desses valores, em um laboratório normal, o número de partículas maiores que 0,5 μm pode chegar a 2×10^7 m^{-3}.[19]

Os filtros HEPA apresentam uma eficiência de 99,97% para retenção de partículas ≥ 0,3 μm. Assim, esses filtros impedem a entrada de partículas de poeira geológica, pólen, bactéria, pó de carvão, mas não filtram, eficientemente, partículas menores presentes na fumaça de cigarro e em poeiras de origem metalúrgica (Figura 3.2). Filtros HEPA especiais, HEPA Tipo D, denominados filtros ULPA (*Ultra Low Penetration Air*) deverão reter, por definição, 99,9995% de partículas ≥ 0,12 μm, e são recomendados em ambientes projetados para atender ISO Classe 3 e ISO Classe 4.

O esquema da Figura 3.4 mostra uma sala limpa com bancadas central e laterais, onde podem ser instaladas capelas de exaustão, desde que o ar não retorne para o sistema de tratamento, e capelas de fluxo laminar.

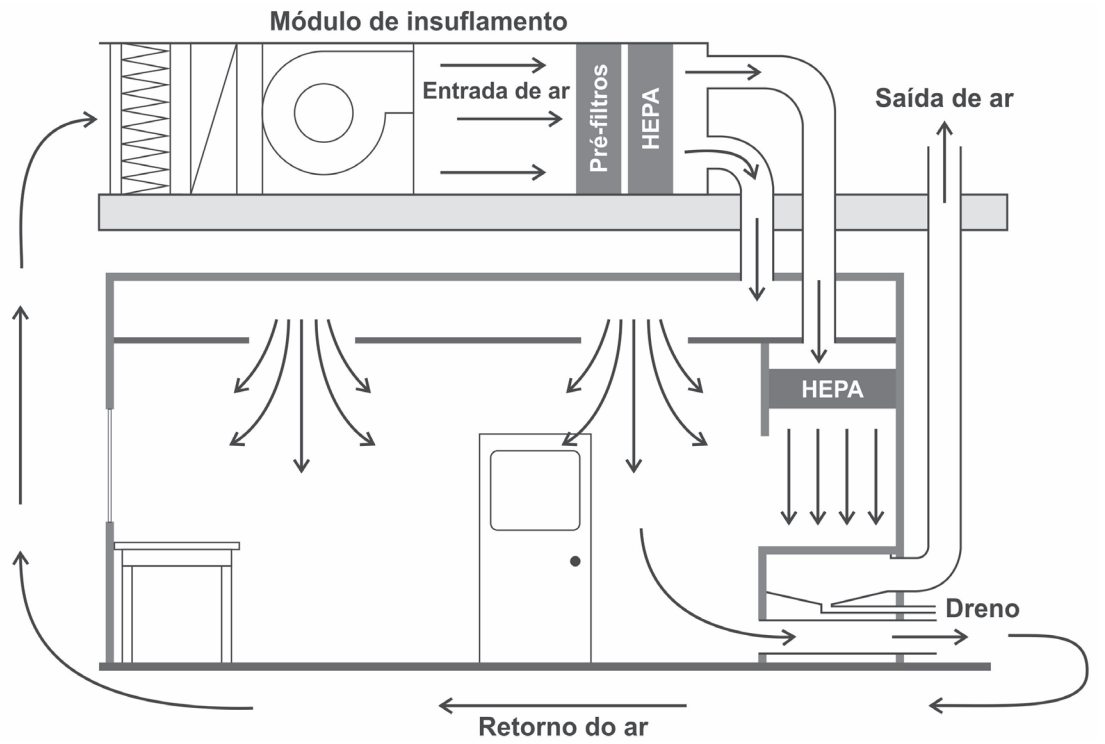

Figura 3.3. Corte esquemático de uma sala limpa com capela de exaustão. Adaptada da referência 1. Figura reproduzida com permissão da John Wiley and Sons.

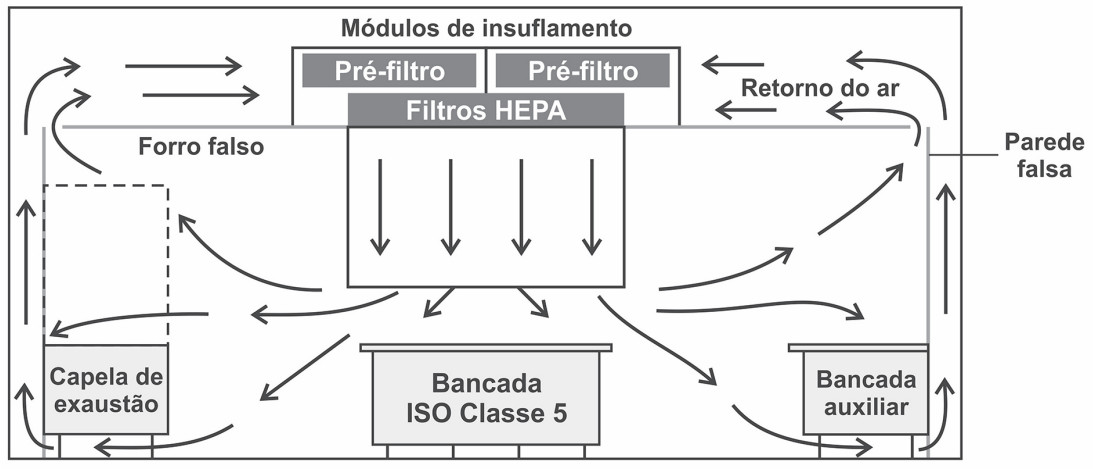

Figura 3.4. Corte de uma sala limpa com bancadas central e auxiliar e capela com exaustão. Adaptada da referência 20.

Apesar de aparentemente simples, a construção de salas limpas é complexa pois, em alguns casos, é permitido que o fluxo na área de circulação seja turbulento, sendo laminar apenas no interior das capelas ou sobre as bancadas. Em outros

casos, a admissão do ar na sala limpa é através de fluxo laminar. A Figura 3.5 mostra um exemplo de projeto especial de sala limpa, com indicação do retorno do ar através do piso inferior, em direção ao piso técnico superior, onde ocorre filtração, desumidificação e/ou refrigeração através de um sistema conhecido como módulo de insuflamento, e posterior passagem através de filtros HEPA.[21] No Brasil existem várias empresas especializadas em projetos de salas limpas, inclusive na manutenção e contagem de partículas. Há, também, a Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação (SBCC; www.sbcc.com.br), que edita a Revista da SBCC. Nessa revista é possível identificar as empresas nacionais, e consultar artigos bastante esclarecedores sobre salas limpas como, por exemplo, o trabalho de Fei Peng e Guangbei Tu.[22]

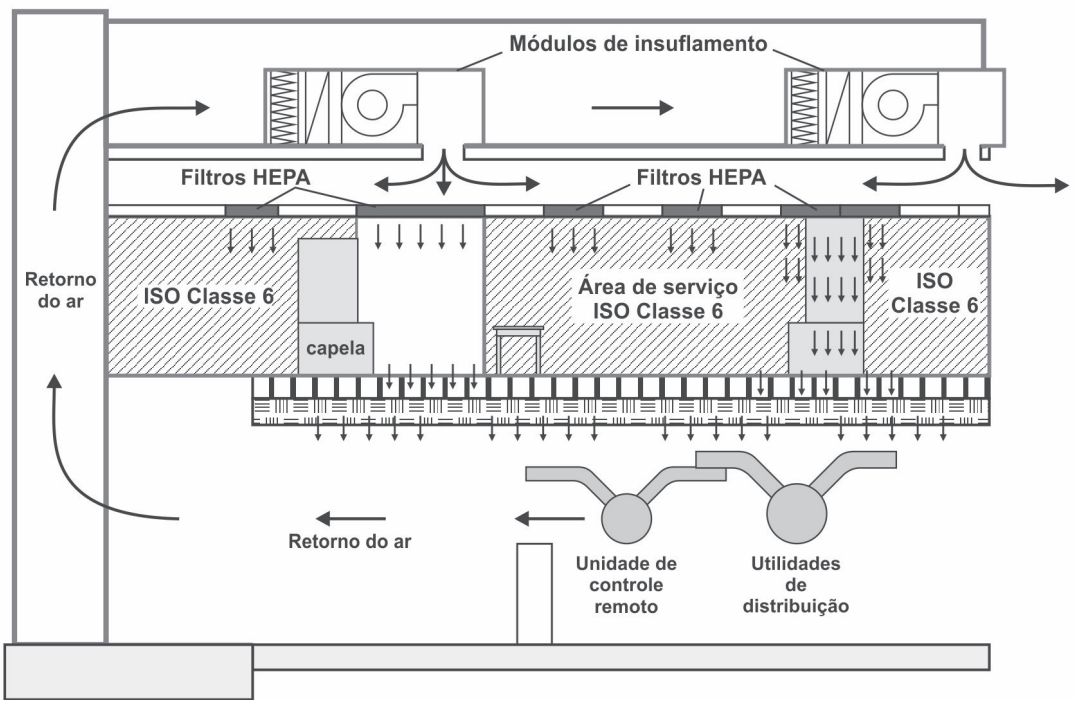

Figura 3.5. Corte de uma instalação para salas limpas com sistemas de insuflamento centrífugo no piso superior, piso com salas limpas Classe 1000 com filtros HEPA no teto (a separação física entre pisos facilita a manutenção) e piso inferior onde é feita a tomada de ar das salas limpas. Adaptada da referência 21.

Para a manutenção dos ambientes nas classes de limpeza desejadas, existe uma série de requisitos mínimos, além do treinamento de todos os profissionais com acesso às salas limpas. A lista apresentada a seguir ilustra a disciplina mínima exigida nesses ambientes:

1. Todos os itens pessoais, como celulares, chaves, relógios, anéis, brincos, cigarros e isqueiros, devem ser guardados fora da sala limpa;
2. Não se deve fumar próximo ao local onde é feita a tomada de ar para o tratamento primário;
3. A entrada de qualquer pessoa no interior de salas limpas só deve ser permitida com uso de roupas especiais, que incluem, no mínimo, capas para calçados, calças, jalecos e gorros. Os projetos de salas limpas sempre incluem antessalas e, em alguns casos, antecâmaras para a remoção de partículas previamente à entrada dos usuários;
4. O uso de cosméticos é vedado às pessoas que ingressarem nas salas limpas, incluindo *rouge*, baton, sombra para olhos, lápis para olhos, máscaras, delineadores, cílios postiços, esmalte de unhas, fixadores de cabelos, mousse, shampoo anticaspa à base de sulfeto de selênio, tintas de cabelo (algumas são feitas com acetato de chumbo), assim como o uso em quantidade excessiva de loções e perfumes. A Tabela 3.4 mostra os principais contaminantes presentes em cosméticos. A composição varia muito e raramente é informada pelos fabricantes. Vide também a composição média de alguns contaminantes em cosméticos na Tabela 3.5;
5. Usar somente papéis aprovados para uso em salas limpas. O uso de papel toalha é proibido. Deve-se usar, se possível, secador de mãos equipado com filtro HEPA;
6. Usar somente canetas aprovadas para salas limpas;
7. Não se deve tocar na superfície de qualquer material sem luvas apropriadas, principalmente quando não houver certeza absoluta de que a superfície está bem limpa;
8. Usar somente luvas sem talco ou outro tipo de pó. Em alguns casos, usam-se pinças para manipular as amostras. As impressões digitais são fontes severas de contaminação, particularmente para determinação de baixas concentrações de Na e Cl;
9. Deve-se evitar o contato de solventes com a pele, pois pode haver remoção de gorduras e tecido morto na forma de escamas. A Tabela 3.5 também mostra alguns contaminantes presentes na pele;
10. O uso de loções ou sabonetes à base de lanolina pode, às vezes, ser tolerado por diminuir a emissão de flocos de pele;

11. Todas as ferramentas de trabalho, os reservatórios de água e outros materiais devem ser limpos com o mesmo critério usado para limpar as superfícies das bancadas das salas limpas;
12. Nenhum utensílio pode ser colocado diretamente sobre a bancada. Normalmente, usa-se uma bandeja apropriadamente forrada com papel especial para esta finalidade;
13. Somente panos de limpeza apropriados para a classe de uso da sala limpa poderão ser usados;
14. Todos os equipamentos e materiais introduzidos em ambiente estéril deverão ser passíveis de esterilização;
15. Não é permitida a entrada de qualquer pessoa fisicamente doente em ambientes estéreis, especialmente aquelas com desordens estomacais ou respiratórias. Essa é uma boa prática em qualquer sala limpa.

Tabela 3.4. Contaminantes comumente encontrados em alguns cosméticos. Adaptada da referência 23.

Cosmético	Elementos presentes na composição
Baton	Bi, Fe, Mg, Mn, Ti e Zn
Sombra para olhos	Al, Bi, Cr, Fe, Mg, Mn, Si e Ti
Rouge ("Blush")	Ca, Fe, Mg, Si e Ti
Máscara	Al, Cr, Fe, Mg, Na e Ti
Pós faciais	Bi, Ca, Fe, Mg, Si, Ti e Zn
Base	Al, Fe, Mg, Na, Si, Ti e Zn

Tabela 3.5. Potenciais contaminantes em ambientes de trabalho. Adaptada das referências 24-26. Dados reproduzidos com permissão da IAEA-International Atomic Energy Agency.

Contaminante	Al	Ca	Fe	K	Pb	Zn
Poeira geológica ($\mu g\ g^{-1}$)	3000	2700	3200	8000	2150	1600
Fumaça de cigarro ($\mu g\ g^{-1}$)			7			10
Cosméticos ($\mu g\ g^{-1}$)		60000	1100	250		35000
Suor ($\mu g\ mL^{-1}$)		4 - 10	1	350	0,1 - 3	1
Pele ($\mu g\ g^{-1}$)	1 - 2	250	10	3000		6 - 20
Cabelo ($\mu g\ g^{-1}$)	4 - 30	3200	5 - 70	900	3 - 70	450

Além dessas precauções, deve-se ter um controle rígido de parâmetros operacionais, tais como a direção e o fluxo de ar, a pressão interna, a umidade relativa

e temperatura e, além disso, avaliar periodicamente o número de partículas por metro cúbico de ar.

A Tabela 3.6 mostra como a qualidade do ar do laboratório melhora em salas limpas e em capelas de fluxo laminar, com considerável diminuição das contaminações por Fe, Cu, Pb e Cd.

Tabela 3.6. Teores (μg m^{-3}) de alguns elementos no ar de laboratórios. Adaptada da referência 27.

Condição	Fe	Cu	Pb	Cd
Laboratório comum	0,2	0,02	0,4	0,002
Sala limpa	0,001	0,002	0,0002	nd
Capela de fluxo laminar	0,0009	0,007	0,0003	0,0002

3.3.2. Contaminação por reagentes e soluções

Os brancos analíticos podem ser diminuídos consideravelmente utilizando-se quantidades mínimas de reagentes de alta pureza, os quais podem ser adquiridos nesta forma ou purificados no próprio laboratório. A água é, reconhecidamente, o solvente que mais pode contribuir para a ocorrência de altos valores de brancos. Idealmente, o branco do solvente não deve prejudicar o limite de detecção instrumental.

a) Água

Água ultrapura é indispensável para a diminuição dos brancos analíticos, podendo ser obtida em volumes razoáveis com a combinação de sistemas de purificação para o tratamento primário da água bruta (destilação, osmose reversa ou troca iônica) e para o tratamento subsequente (sistema fechado com recirculação através de colunas de troca iônica ou destilação abaixo do ponto de ebulição em destiladores de quartzo). A Tabela 3.7 mostra a variação da composição de uma amostra de água não tratada e após diferentes tratamentos.

Uma das combinações mais utilizadas é a osmose reversa com resinas de troca iônica em sistema fechado. A unidade de tratamento primário pode ser combinada com o emprego de processo de eletrodesionização, conforme descrito por Darbouret e Kano.[28,29] A unidade de produção de água ultrapura geralmente emprega uma mistura de resinas de alta qualidade empacotada em polipropileno

de alta pureza. Alguns fabricantes incorporam a foto-oxidação com radiação UV (185 e 254 nm) na entrada do sistema para a decomposição de compostos orgânicos e organometálicos (fundamentos descritos no Capítulo 12). Os íons são, então, retidos nas resinas de troca iônica e a qualidade da água pode ser, em princípio, pré-avaliada com a medição da resistividade ou da condutividade.

A produção da água deverá ser conduzida em ambiente com Classe de limpeza apropriada (ISO Classe 5 é recomendável) e o armazenamento em recipientes isentos de contaminantes. A qualidade da água, como reagente, é definida pela ASTM (*American Society for Testing and Materials*), NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), CAP (*College of American Pathologists*) e ISO® 3696/BS 3997 como Tipo I, Tipo II, Tipo III ou Tipo IV, em função da condutância específica (μmhos cm^{-1}), da resistividade (MΩ cm), do teor de silicato (mg L^{-1}), contagem de bactérias e pH (Tipos III e IV). Para fins de tratamento, um sistema que produz água de altíssima pureza deverá atender aos critérios para o Tipo I, com resistividade ≥ 18 MΩ cm. Água Tipo II deverá apresentar resistividade ≥ 1-2 MΩ cm.

A resistividade maior que 18,2 MΩ cm é uma indicação da qualidade, mas não necessariamente um atestado de água de altíssima pureza. Para tanto é recomendável determinar os elementos de interesse, utilizando métodos com limites de detecção da ordem de ng L^{-1} ou μg L^{-1}, como ICP-MS e GFAAS. A Tabela 3.8 mostra um exemplo da qualidade de água tratada em sistemas comerciais.[28]

Ácidos

Os ácidos inorgânicos podem ser fontes de contaminação severas, dependendo do elemento a ser determinado e da qualidade e do volume do ácido utilizado. Mesmo ácidos de alta pureza disponíveis comercialmente podem apresentar concentrações relativamente elevadas de alguns contaminantes (Tabelas 3.9 e 3.10), inviabilizando a determinação de elementos-traço face aos elevados valores dos brancos analíticos. Naturalmente, os valores dos brancos dependem do volume do ácido utilizado, que pode ser significativamente diminuído utilizando-se sistemas fechados ou estratégias que possibilitem a diminuição do consumo, particularmente na decomposição de amostras. Mesmo assim, o consumo de ácidos de alta pureza pode ser relativamente alto. A melhor alternativa para a utilização de ácidos de altíssima pureza, a um custo relativamente baixo, é a purificação por

Tabela 3.7. Concentrações de impurezas (μg L^{-1}) em água sob diferentes tratamentos. Dados compilados por Iyengar e Sansoni,[30] reproduzidos com permissão da IAEA-International Atomic Energy Agency.

	Torneira	Desionizada	Destilação térmica em quartzo seguida de desionização em colunas
Al	57	0,10	<0,002
Br	95	0,10	-
Ca	55 000	1	<0,0003
Cd	0,70	<0,10	<0,007
Cl	14 100	1	<0,0004
Co	-	<0,10	0,02
Cr	-	<0,10	0,0002
Cs	0,02	-	<0,00001
Cu	-	0,20	<0,002
F	1,40	-	<0,0002
Fe	-	0,20	<0,0005
I	9,40	-	<0,001
K	28 000	0,04	<0,0001
Mg	10 400	0,30	<0,0002
Mn	2,20	0,05	<0,0005
Na	8100	0,03	<0,0002
Ni	30	<0,1	<0,0002
P	43	0,004	<0,0003
Pb	8,50	0,10	<0,003
Rb	10	-	<0,001
S	14100	4	<0,0003
Sb	0,60	<0,50	<0,002
Si	4900	0,50	-
Sn	0,60	0,10	<0,004
Sr	11000	0,06	<0,007
V	18,50	<0,1	0,40
Zn	5,60	<0,1	<0,002

destilação abaixo do ponto de ebulição do ácido. Esse método, denominado em inglês *"sub-boiling distillation"*, baseia-se no aquecimento de um líquido com radiação no infravermelho, utilizando-se uma resistência elétrica aquecida por efeito Joule, devidamente protegida por um invólucro de vidro ou de quartzo. O líquido

Tabela 3.8. Teores de elementos (ng L^{-1}) determinados por ICP-MS em águas tratadas com sistemas comerciais. Adaptada da referência 28.

Analito	Millipore Elix® (Tipo II)	Milli-Q®
^{7}Li	0,34	0,034
^{23}Na	545,5	0,32
^{24}Mg	0,99	< 0,34
^{27}Al	9,9	< 0,18
^{39}K	36,2	5,2
^{40}Ca	12,14	6,8
^{52}Cr	0,29	< 0,082
^{55}Mn	0,51	< 0,4
^{56}Fe	1,10	0,46
^{63}Cu	1,38	0,067
^{64}Zn	34,6	4,4
^{208}Pb	1,15	0,94

Millipore Elix® e Milli-Q® são marcas registradas da Millipore

é vaporizado sem entrar em ebulição promovendo, assim, a purificação. Quando a destilação é feita abaixo do ponto de ebulição, não há formação de aerossol devido à dispersão de gotículas do líquido na fase gasosa. O líquido vaporizado é condensado em um dedo frio, em geral feito de quartzo de alta pureza, obtendo-se um produto final de pureza equivalente ou maior que o produto comercial, desde que devidamente coletado e armazenado em frascos apropriados (Figura 3.6). Ácidos nítrico e clorídrico concentrados são facilmente purificados, coletando-se os destilados em frascos de quartzo de alta pureza. Água de altíssima pureza também pode ser obtida dessa forma. Ácido fluorídrico pode ser destilado utilizando-se equipamentos feitos com polímeros de alta pureza.[31,32] Para mais informações sobre a purificação por destilação abaixo do ponto de ebulição recomendam-se os artigos de Kuehner *et al.*[31] e de Moody *et al.* [33] A Tabela 3.11 mostra a composição de água purificada por destilação abaixo do ponto de ebulição e permite a comparação de ácidos purificados nesse sistema com ácidos comerciais.

Soluções de ácido clorídrico 2 - 4 mol L^{-1} de alta pureza podem ser obtidas por destilação isotérmica a partir de solução 12 mol L^{-1} HCl. Coloca-se um volume do ácido concentrado diretamente na base inferior de um dessecador de vidro, e um béquer com 200 mL de água de alta pureza sobre uma placa de porcelana perfura-

Tabela 3.9. Impurezas em ácidos clorídrico, fluorídrico e nítrico. Dados em μg L^{-1} compilados por Iyengar e Sansoni,[30] reproduzidos com permissão da IAEA-International Atomic Energy Agency.

Elemento	HCl		HF		HNO_3	
	pró-análise	ultrapuro	pró-análise	ultrapuro	pró-análise	ultrapuro
Al	8	0,80	4	0,5	7	1
As	-	-	-	-	-	0,005
Br	-	2,60	-	-	-	7
Ca	72	0,30	0,4	52	0,2	0,4
Cd	0,03	0,003	8	0,005	0,1	0,03
Cl	-	-	-	-	-	-
Co	0,09	0,001	<1	1	0,018	0,01
Cr	1,10	0,008	5	0,6	72	0,10
Cs	0,002	<0,002	-	-	<0,01	<0,1
Cu	0,20	0,03	0,50	0,30	1,30	0,2
Fe	1	-	60	0,60	1 300	0,80
Hg	-	-	<10	<10	-	-
K	200	0,10	0,40	1	<10	9
Mg	7	0,30	2	0,1	3	0,40
Mn	<2	0,001	0,60	0,03	9	2
Na	500	0,20	100	0,60	80	0,01
Ni	0,20	0,005	0,50	0,05	0,70	0,03
P	-	0,20	-	7	0,80	0,50
Pb	0,20	0,0015	2,20	0,002	0,20	0,01
Rb	-	-	-	-	-	-
S	-	3	-	-	0,60	15
Sb	0,20	0,38	-	3,0	0,03	0,04
Se	-	-	-	-	0,20	0,09
Si	20	1	-	4	30	8
Sn	0,07	0,002	11	0,05	0,10	0,002
Sr	2	0,06	0,50	0,10	0,20	0,01
Ti	-	0,006	-	0,50	0,50	0,80
Tl	0,10	0,10	0,20	0,10	0,20	-
V	-	0,08	-	-	0,05	-
Zn	1	0,03	6	0,10	4	0,08

Tabela 3.10. Impurezas em ácidos sulfúrico e perclórico. Dados em μg L^{-1} compilados por Iyengar e Sansoni,[30] reproduzidos com permissão da IAEA-International Atomic Energy Agency.

Elemento	H_2SO_4		$HClO_4$	
	pró-análise	ultrapuro	pró-análise	ultrapuro
Al	8	-	-	-
As	-	-	-	-
Br	-	-	-	-
Ca	10	2	760	0,2
Cd	<1	<1	0,1	0,05
Cl	-	-	-	-
Co	<1	<1	-	-
Cr	25	2	10	9
Cs	-	-	-	-
Cu	3	3	11	0,10
F	-	-	-	-
Fe	8	-	330	2
Hg	<10	-	-	-
I	-	-	-	-
K	<10	4	200	0,6
Mg	3.30	2	500	0,2
Mn	8	0,8	-	-
Na	20	9	20	9
Ni	<1	0,20	<1	0,20
Pb	1,2	1	1,2	1
Rb	-	-	-	-
Sb	-	-	-	-
Se	-	200	-	200
Si	18	-	18	-
Sn	0,60	0,20	0,60	0,20
Sr	0,40	0,30	0,40	0,30
Th	-	-	-	-
Ti	-	-	-	-
Tl	0,10	0,10	0,10	0,10
U	-	-	-	-
V	<2,40	-	<2,40	-
Zn	<1	<1	<1	<1

da, que possa ser apoiada no interior do dessecador. O conjunto fica fechado por cerca de 10-15 dias sob temperatura ambiente. A concentração do ácido no béquer é determinada por volumetria de neutralização.

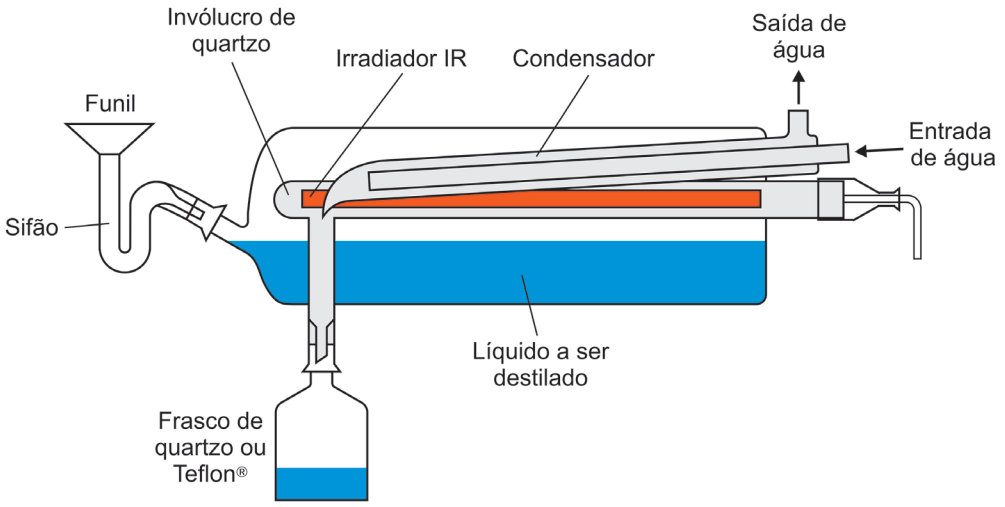

Figura 3.6. Corte esquemático de um destilador *"sub-boiling".* Adaptada das referências 16 e 31.

Tabela 3.11. Impurezas residuais em água purificada por destilação abaixo do ponto de ebulição e em diferentes ácidos com diferentes graus de pureza. Dados em μg L^{-1}. Adaptada das referências 16,19 e 31.

	Cd	Cu	Fe	Al	Pb	Mg	Zn
H_2O *sub-boiling*	0,01	0,04	0,32	<0,05	0,02	<0,02	<0,04
10 mol L^{-1} HCl sub-boiling	0,01	0,07	0,6	0,07	0,05	0,20	0,2
10 mol L^{-1} HCl ultrapuro[a]	0,03	0,2	11	0,8	0,13	0,5	0,3
12 mol L^{-1} HCl pró-análise	0,1	1,0	100	10	0,5	14	8,0
15 mol L^{-1} HNO_3 *sub-boiling*	0,001	0,25	0,2	<0,005	<0,02	0,15	0,04
15 mol L^{-1} HNO_3 ultrapuro[a]	0,06	3,0	14	18	0,7	1,5	5,0
15 mol L^{-1} HNO_3 pró-análise	0,1	2,0	25	10	0,5	22	3,0
54% HF *sub-boiling*	0,01	0,5	1,2	2,0	0,5	1,5	1,0
40% HF ultrapuro[a]	0,01	0,1	3,0	1,0	3,0	2,0	1,3
54% HF pró-análise	0,06	2,0	100	5,0	4,0	3,0	5,0

[a] Produto comercial

3.3.3. Contaminações por impurezas em frascos de reação e recipientes

Em princípio, nenhum material é absolutamente resistente a uma solução, mesmo que somente água entre em contato com o mesmo. Consequente-

mente, elementos presentes no material poderão ser encontrados na solução em maior ou menor quantidade. Essa quantidade dependerá do material, da composição da solução, do tempo de contato e da temperatura. Por exemplo, o vidro borossilicato, que contém vários elementos em diferentes concentrações (Tabela 3.12), é um material impuro quando comparado ao quartzo, polietileno, polipropileno e polímeros fluorados, *e.g.* politetrafluoretileno (PTFE), perfluoroalcoxi (PFA) e fluoroetilenopropileno (FEP). Além disso, as perdas por adsorção em vidros podem ser elevadas (item 3.5). Assim, como regra geral, soluções de amostras e soluções-padrão não devem ser armazenadas em vidro para determinação de elementos-traço.

Quartzo

Embora seja disponível em diferentes graus de pureza, o quartzo pode ser considerado um dos materiais mais puros encontrados no mercado. O quartzo é composto quase que exclusivamente de SiO_2 e a concentração de elementos-traço dependerá do tipo de quartzo e do método de produção.[23] O quartzo encontrado nos laboratórios pode ser do Tipo I (fusão eletrotérmica) ou do Tipo II (fusão com chama $H_2 – O_2$). O quartzo Tipo II apresenta maior pureza porque os elementos contaminantes são volatilizados na chama. Quartzo sintético é obtido por hidrólise de $SiCl_4$ na fase vapor (Tipo III) ou por oxidação e fusão elétrica de $SiCl_4$ (Tipo IV). Heralux® e Suprasil®, marcas registradas da Heraeus, correspondem aos quartzos Tipo II e Tipo III, respectivamente. A Tabela 3.13 mostra as principais impurezas que podem ser encontradas nos vários tipos de quartzo. Vide também a Tabela 3.12 que permite a comparação com outros materiais.

Polímeros sintéticos

Como o custo relativamente elevado do quartzo restringe seu uso, alternativamente, materiais poliméricos sintéticos de alta pureza (*e.g.* PTFE, PFA e FEP) podem ser usados em muitas aplicações. O custo depende do tipo de polímero, das propriedades físicas e do grau de pureza de cada material.

Polietileno, polipropileno e polímeros fluorados

Tanto frascos de LDPE (polietileno de baixa densidade), como de HDPE (polietileno de alta densidade), podem ser usados para o armazenamento de solu-

Tabela 3.12. Impurezas em diferentes materiais (ng g^{-1}). Adaptada das referências 16 e 19.

Elemento	Carbono Vítreo	PTFE Teflon®	Quartzo Heralux®	Quartzo Suprasil®	Vidro Borossilicato
B	100	-	100	10	principal
Na	350	25000	1000	10	principal
Mg	100	-	100	100	$6x10^5$
Al	6000	-	30000	100	principal
Si	85000	-	principal	principal	principal
K	80000	-	800-3000	100	10^6
Ti	12000	-	800	100	3000
Cr	80	30	5	3	3000
Mn	100	-	10	10	6000
Fe	2000	10	800	200	$2x10^5$
Co	2	2	1	1	100
Ni	500	-	-	-	2000
Cu	200	20	70	10	1000
Zn	300	10	50	100	3000
As	50	-	80	0,1	500-22000
Cd	10	-	10	-	1000
Sb	10	0,4	2	1	8000
Hg	1	10	1	1	-

Teflon® é marca registrada da DuPont; Heralux® e Suprasil® são marcas registradas da Heraeus.

Tabela 3.13. Impurezas de alguns elementos em vidro borossilicato e diferentes tipos de quartzo. Dados em µg g^{-1}. LOD = limite de detecção. Adaptada da referência 23.

Elemento	Vidro borossilicato	Quartzo (Tipo I)	Quartzo (Tipo II)	Quartzo (Tipo III)
Al	Principal	74	68	< 0,25
B	Principal	4	0,3	0,1
Ca	1000	16	0,4	< 0,1
Cr		0,1	< LOD	0,03
Cu		1	1	< 1
Fe	3000	7	1,5	< 0,2
K	3000	6	< 1	0,1
Li		7	1	< LOD
Mg	600	4	< LOD	< LOD
Mn	1000	1	0,2	< 0,02
Na	Principal	9	5	< 0,1
Sb	2,9	0,3	0,1	0,1

ções visando à determinação de elementos-traço. O LDPE é produzido por polimerização do etileno sob alta pressão. O HDPE é produzido sob baixa pressão, e a polimerização é catalisada por metais de transição (Al, Ti, Zr, V e Cr). A temperatura máxima de uso do LDPE é de 80 °C, ao passo que o HDPE pode ser usado até 110 °C. Não obstante, considerando-se os potenciais contaminantes, o polietileno de baixa densidade é preferível ao de alta densidade.

O polipropileno (PP) é produzido cataliticamente com Al e Ti a partir do propileno e também pode conter teores elevados de alguns contaminantes. Esse polímero é estável até 135 °C e pode ser usado para armazenar soluções, mas é recomendável avaliar sua qualidade *a priori* visando à determinação de analitos com teores menores que 10 μg L^{-1}, particularmente Al e Ti.

Polímeros fluorados são mais caros que HDPE, LDPE e PP, mas podem ser obtidos com elevado grau de pureza (Tabela 3.14). Apresentam como vantagens adicionais a maior resistência aos ácidos e possibilidade de uso em maiores temperaturas. O PTFE convencional torna-se poroso quando submetido a temperaturas maiores que 150 °C. Atualmente os fluoropolímeros mais utilizados são o PFA, FEP TFM® (PTFE modificado pela Hoescht) com temperatura operacionais máximas de 260, 200 e 300 °C, respectivamente. Esses polímeros são mais puros que o PTFE convencional e, assim, mais recomendados nos procedimentos para a determinação de elementos-traço. Desses, o TFM® é preferido para a decomposição de materiais sob altas temperaturas por sua maior resistência física e química e por proporcionar menores brancos analíticos quando comparado ao PFA. As conta-

Tabela 3.14. Contaminantes presentes em alguns polímeros. Valores em μg g^{-1}. Adaptada da referência 34.

Elemento	LDPE	HDPE	PP	PFA	FEP	PTFE
Al	0,5	30	55		0,2	0,23
Ca		800				
K	> 5	> 0,6			90	
Na	1,3	15	4,8	0,1	0,4	0,16
Sb	0,005	0,2	0,6			
Ti		5	60			
Mn		0,01	0,02	0,02	0,06	
Zn		520				

minações devidas às impurezas presentes em materiais também ocorrem nos frascos, tubos e mini-frascos de amostradores, ponteiras de micropipetas, entre outros materiais. A Tabela 3.15. mostra os principais contaminantes presentes em frascos de polietileno usados em análise por ativação neutrônica instrumental.

Tabela 3.15. Elementos presentes em frascos plásticos para irradiação de amostras. Adaptada da referência 35.

Elementos	Massa total (µg) em frascos de 1,1 g
Fe	1 – 10
Cl, Na, K, Al, Zn	0,1 - 1,0
Cu, Cd, Cr, Br, Mn	0,01 - 0,1
Sb, W, Co, As, Au	0,001 - 0,01
Se, V, La, Ag, Sc	< 0,001

Outros materiais

Especialmente, durante a amostragem, deve-se evitar que a amostra entre em contato com outros materiais que causem contaminação. A borracha, muitas vezes usada como tampa em alguns frascos, pode contaminar as amostras por causa dos elevados teores de As, Sb, Cr, Co, Zn e Sc. O Nylon® também pode causar contaminação, pois contém altos teores de Co, assim como o cloreto de polivinila (PVC), que contém Zn, Fe, Sb e Cu em quantidades relativamente altas.

Ferramentas usadas para moer, peneirar, cortar, furar e macerar oferecem altíssimo risco de contaminação para muitos analitos. A moagem, por exemplo, deveria ser evitada sempre que possível, devido aos altos riscos de contaminação. Por outro lado, a homogeneização da amostra poderá ficar comprometida sem a moagem. Tradicionalmente, os materiais que oferecem menor risco de contaminação durante a moagem são aqueles feitos de ágata, óxido de alumínio, carbeto de tungstênio ou óxido de zircônio.[36] Os principais contaminantes presentes em materiais usados para moagem são apresentados na Tabela 3.16.

Em geral, para evitar ou minimizar a contaminação por componentes do sistema de moagem, estes devem ser mais duros (mais resistentes) que a amostra. Por exemplo, se carbeto de tungstênio for moído em um moinho com componentes de aço, a contaminação por Fe deverá ser alta, pois o carbeto de tungstênio é mais duro que o aço. Nesse ponto, cabe a observação [37] de que ao invés de moermos

a amostra, estaremos moendo componentes do moinho. Por outro lado, se um moinho de carbeto de tungstênio for utilizado para moer materiais relativamente frágeis, como Al_2O_3 ou dureza similar, partículas de carbeto de tungstênio poderão ser incorporadas à amostra moída.

Durante a moagem criogênica, por exemplo, quando feita em tubo de policarbonato por impacto de uma barra de aço contra extremidades fixas de aço, pode-se constatar dois tipos de contaminação. A primeira é causada pela fricção e atrito da amostra com as peças do conjunto de moagem (*e.g.* contaminação por Fe e Cr), ao passo que a segunda se caracteriza por contaminação cruzada, que pode ser provocada pela moagem de amostras anteriores.[38] A contaminação cruzada pode ser minimizada pela descontaminação dos tubos de policarbonato em banhos com ácidos,

Tabela 3.16. Composição aproximada de alguns materiais usados em equipamentos de moagem (dados em %). Dados compilados na referência 41.

	Ágata	Óxido de alumínio sinterizado	Zircônia	Carbeto de tungstênio	Aço cromo	Aço endurecido
SiO_2	99,910	0,075	0,170	-	-	-
Al_2O_3	0,020	99,70	-	-	-	-
Na_2O	0,020	0,010	-	-	-	-
K_2O	0,010	-	-	-	-	-
Fe_2O_3	0,010	0,010	0,030	-	-	-
MnO	0,010	-	-	-	-	-
CaO	0,010	0,070	1,400	-	-	-
MgO	0,010	0,075	1,400	-	-	-
ZrO_2	-	-	97,000	-	-	-
WC	-	-	-	94,000	-	-
Fe	-	-	-	-	84,890	96,845
Cr	-	-	-	-	12,000	1,850
C	-	-	-	-	2,200	1,050
Si	-	-	-	-	0,400	0,350
P	-	-	-	-	0,030	0,030
S	-	-	-	-	0,030	0,025
Mn	-	-	-	-	0,450	0,450
Ni					-	0,300
Co	-	-	-	6,000	-	-
Cu	-	-	-	-	-	0,300

e.g. 2% HNO_3 (v/v) e, também, é altamente recomendado que se dediquem determinados conjuntos de moagem para alguns tipos de amostras que são mais propensas a provocar contaminação cruzada, como é o caso de fertilizantes e solos, por exemplo.

Cabe mencionar que a contaminação por Fe foi evitada na moagem criogênica de farinha de trigo empregando-se conjuntos de moagem contendo as peças de aço inoxidável revestidas por policarbonato.[39] No entanto, em muitos casos, a contaminação pode ser imperceptível e até mesmo negligenciada, uma vez que contribui de maneira insignificante à incerteza da medição frente ao alto teor do analito (*e.g.* Fe e Cr) na amostra.

O nível de contaminação poderá variar com as condições de moagem e é dependente do tipo de moinho e materiais de moagem, da intensidade e duração da moagem, do desgaste das peças, da natureza da amostra e da atmosfera ambiente, entre outros fatores. Segundo Suryanarayana,[40] apesar de muitos fabricantes preconizarem a qualidade de seus moinhos com relação a outros, não existe ainda um trabalho sistemático sobre contaminação, comparando-se moagens sob condições idênticas.

A contaminação por Cr, Fe, Ni, Co, Mn, Cu e outros elementos também poderá ser constatada durante o corte de tecidos biológicos com escalpelos e durante a amostragem de sangue por agulhas hipodérmicas. Nesse aspecto, o uso de espátulas, facas, pinças e agulhas de plástico, titânio de alta pureza ou quartzo é recomendado.

Além disso, devem-se mencionar as perdas por volatilização que podem ocorrer durante a moagem. Nesse particular, a moagem criogênica é a melhor estratégia. Detalhes sobre esse tipo de moagem são apresentados no Capítulo 4.

Cuidados adicionais também devem ser tomados para evitar mudanças nas amostras causadas por microrganismos e/ou reações fotoquímicas, que podem alterar as formas químicas dos analitos. Nesses casos, embalagens que impedem a entrada de radiação UV-visível e a refrigeração são recomendáveis.

Além disso, precauções também devem ser tomadas com respeito aos equipamentos e acessórios usados no preparo das sub-amostras nos laboratórios. Suportes metálicos dos mais variados, como aqueles para buretas, placas aquecedoras (frequentemente com sinais de oxidação), estufas e fornos tipo mufla são potenciais fontes de contaminação.

3.4. PERDAS POR VOLATILIZAÇÃO

As perdas de elementos por volatilização ocorrem, principalmente, em altas temperaturas (> 500 °C). Contudo, observam-se também perdas significativas de alguns elementos sob temperatura ambiente. Os analitos podem ser perdidos na forma elementar, raramente como óxidos, e predominantemente como haletos. A Tabela 3.17 mostra exemplos de diferentes formas como os elementos podem ser perdidos por volatilização. A extensão das perdas depende do tipo de amostra e de variáveis como temperatura e tempo. No Capítulo 11, especialmente dedicado aos métodos de decomposição por combustão, são comentados os riscos de perdas por volatilização de vários analitos em diferentes amostras. De um modo geral, o mercúrio é volátil na maior parte de suas formas químicas, o mesmo ocorrendo com As, Sb, Sn, Ge e Se, porém, em menor extensão. Além disso, cloretos ou brometos de Cd, Pb, Zn são voláteis sob temperaturas elevadas (*i.e.* > 700 °C). Nesse sentido, o conhecimento prévio da composição química das amostras permite prever os riscos de perdas por volatilização. Em alguns casos, por exemplo, espécies presentes nas amostras impedem perdas de analitos em temperaturas relativamente elevadas.

O Hg pode ser perdido durante a amostragem, armazenamento e preparo da amostra, ou mesmo quando soluções aquosas são armazenadas em frascos abertos ou feitos de polímeros orgânicos. As perdas de Hg podem ocorrer em poucas horas e, além disso, o Hg atravessa rapidamente paredes de frascos plásticos de polietileno ou de polipropileno. Assim, amostras para determinação de Hg não devem ser armazenadas em frascos plásticos, para evitar as perdas por volatilização e/ou evitar contaminação por Hg presente na atmosfera ambiente.

Durante a dissolução de metais e ligas metálicas com ácidos não oxidantes, os elementos S, P, As, Sb, Bi, Se ou Te podem ser separados e/ou perdidos na forma de hidretos voláteis. Além disso, hidretos também podem ser perdidos durante a amostragem. O odor característico de H_2S e PH_3 é uma indicação da perda de P e S por volatilização, quando se utilizam ferramentas de corte ou furadeiras, por exemplo.

Haletos voláteis de As(III), Sb(III), Sn(IV), Ge(IV), Se(IV), Pb(IV) também podem ser perdidos durante a evaporação de soluções ácidas ou durante a combustão de materiais orgânicos. Durante a calcinação de sedimentos para eliminar a matéria orgânica, que normalmente é feita em temperaturas acima de 400 °C,

Tabela 3.17. Elementos e compostos que podem ser perdidos por volatilização. Dados reproduzidos com permissão da John Wiley and Sons.

Forma	Elementos
Elementar	As, Te, Sb, Se, Sn, Cd, Pb, Tl, Zn, Hg, S, P, Br, I
Óxidos	As, S, Se, Te, Re, Ru, Os, Cd, Hg, Zn
Fluoretos	B, Si, Ge, Sn, P, As, Sb, Bi, S, Se, Ti, Zr, Hf, V, Nb, Ta, Mo, W, Re, Ru, Os, Ir, Hg
Cloretos	Al, Ga, In, Tl, Ge, Sn, P, As, Sb, Bi, S, Se, Te, Ti, Zr, Hf, Ce, V, Nb, Ta, Mo, W, Mn, Fe, Ru, Os, Au, Zn, Cd, Pb, Hg
Hidretos	Si, Ge, Sn, Pb, P, As, Sb, Bi, S, Se, Te

a perda desses elementos pode ser significativa. A Tabela 3.18 mostra as temperaturas de ebulição de alguns haletos.

A determinação de elementos-traço requer, muitas vezes, uma etapa de pré-tratamento da amostra para concentrar o analito. Um dos métodos mais simples baseia-se na evaporação do solvente, que pode ser feita em frascos abertos com aquecimento por convecção (placas aquecedoras, blocos de aquecimento ou mantas), assistida por radiação micro-ondas ou em sistemas rotoevaporadores. A eficiência de evaporação do solvente depende do sistema escolhido e do meio reacional, que pode originar misturas azeotrópicas, com temperaturas de ebulição de até 150 °C.

Tabela 3.18. Sais voláteis de alguns elementos. Adaptada da referência 42.

Elemento	Sais voláteis	Temperatura de ebulição (°C)
Chumbo	$PbCl_4$	50
Arsênio	$AsCl_3$	130
	AsF_3	58
Antimônio	SbF_5	150
	$SbCl_5$	79
Germânio	$GeBr_4$	26
	$GeCl_4$	87
Selênio	$SeCl_4$	191 (sublima)
	SeF_4	106
Estanho	$SnCl_4$	115
Vanádio	VCl_4	152

As separações por volatilização de elementos e compostos indesejáveis que possam interferir na determinação dos analitos, também são usuais em muitos procedimentos. É comum evaporar um ácido até quase a secura, ou eliminá-lo, para evitar a formação de precipitados ou complexos. Nesse caso, a temperatura poderá atingir 220 °C. Alternativamente, o analito pode ser separado da matriz por destilação e coletado em uma solução absorvedora ou em uma superfície sólida quimicamente modificada. Neste caso, além da separação do analito, promove-se a concentração do mesmo. Idealmente, esses procedimentos devem ser feitos sem que ocorram perdas dos analitos.

Certamente, os erros sistemáticos causados pela volatilização durante a decomposição das amostras podem ser evitados com a utilização de sistemas fechados e uso de materiais apropriados. Decomposições com ácidos em sistemas abertos requerem várias precauções como, por exemplo, o rigoroso controle da temperatura. Decomposições por fusão podem implicar em perdas de inúmeros elementos por volatilização (Tabela 3.19).

Tabela 3.19. Perdas por volatilização durante a fusão de alguns materiais. Adaptada das referências 43 e 44. Dados reproduzidos com permissão da CEM Corporation.

Fundente	Temperatura de fusão (°C)	Cadinho	Amostras	Elementos voláteis
$LiBO_2$ ou $Li_2B_4O_7$	900 - 950	Pt Pt-Au Grafite	silicatos, solos, óxidos, carbonatos, sulfatos, fosfatos, fluoretos	Ag, As, Bi, Br, Cd, Cl, F, Ga, Hg, In, I, Os, Pb, Re, Ru, S, Sb, Se, Te, Tl, Zn
$KHSO_4$ ou $K_2S_2O_7$	420 - 700	Pt	sulfetos, óxidos de Be, Cr, Fe, Nb, Ta, Ti, Zr, óxidos de lantanídeos	Bi, Cd, Hg, Pb, S, Sb, Se, Tl, Zn
Na_2O_2	450 - 1000 máximo 450°C	Ni, Fe, Ag, Zr, Pt Carbono vítreo	Concentrados de metais preciosos, refratários, solos, silicatos, óxidos de Al,Ti, Fe, Mn, Cr, Sn, Zn, Nb, Ta, ligas metálicas a base de zinco, minérios	Cd, Hg

3.5. ERROS DEVIDOS À ADSORÇÃO E DESSORÇÃO

Os teores de elementos-traço em soluções podem ser afetados por efeitos de adsorção ou dessorção. Por meio desses processos, espécies podem ser adsorvidas à superfície interna dos frascos de reação ou de armazenamento e, posteriormente, serem lixiviadas com a mudança da composição da solução. Segundo Massee *et al.*,[45] as perdas de elementos por adsorção tornam-se apreciáveis em concentrações menores que 10^{-6} mol L^{-1} e são da ordem de 10^{-9} a 10^{-12} mol cm^{-2}. Segundo esses autores, os vários fatores envolvidos nas perdas por adsorção podem ser classificados em quatro categorias. A primeira delas refere-se ao analito propriamente dito, especialmente a sua forma química e concentração. A segunda categoria refere-se às características da solução, como a presença de ácidos (pH), materiais dissolvidos (*e.g.* salinidade e dureza), agentes complexantes, gases dissolvidos (especialmente O_2), espécies que podem influir no estado de oxidação, materiais em suspensão e micro-organismos. A terceira categoria refere-se às propriedades dos frascos de armazenamento das soluções, como a composição química, a rugosidade e porosidade, a limpeza, e a superfície específica dos mesmos. A quarta categoria é constituída por fatores externos, como a temperatura, o tempo de contato, exposição à luz e agitação. Assim, deve-se ter em mente que a quantidade de elementos adsorvidos depende de um grande número de fatores, que dificilmente podem ser especificados conjuntamente.

Perdas significativas de elementos por adsorção poderão ocorrer especialmente quando a solução da amostra entrar em contato com uma grande área superficial. Esse é o caso durante filtrações, emprego de colunas de troca iônica e mudanças de recipientes. De acordo com Tölg e Tchöpel,[1] as seguintes precauções devem ser tomadas para minimizar as perdas de elementos por adsorção:

a) Usar frascos de quartzo, PTFE ou carbono vítreo. O vidro não é um material adequado na determinação de elementos-traço porque pode ocorrer adsorção pelos grupos silanóis, processo fortemente influenciado pelo pH da solução:

$$\text{VidroSiOH} + M^{+} \rightarrow \text{VidroSiOM} + H^{+}$$

b) A superfície e o volume do frasco, assim como o volume da solução da amostra devem ser os menores possíveis;

c) O contato entre a solução da amostra e a superfície do frasco deve ser o menor possível;
d) As soluções das amostras devem ser acidificadas, se possível, porque as perdas são menores quando comparadas com soluções neutras ou alcalinas;
e) A limpeza e pré-condicionamento dos frascos utilizados devem ser feitas, idealmente, com vapores ácidos. Esse procedimento reduz consideravelmente os brancos, assim como as perdas por adsorção.

Elementos-traço também podem ser perdidos por deposição eletroquímica, durante a amostragem e preparo da amostra.[1] Esse processo ocorre quando os elementos dissolvidos em um eletrólito entram em contato com a superfície de um metal mais eletronegativo. Nesse caso, o elemento-traço (*e.g.* Pt, Pd, Au, Hg e Cu) deposita sobre a superfície metálica, sendo removido da solução. Perdas de elementos por eletrodeposição podem ocorrer durante a amostragem, moagem, corte e homogeneização, particularmente quando amostras aquosas e tecidos ou fluidos biológicos, como peixes, carnes, sangue, frutas, entram em contato com ferramentas metálicas. Esse processo pode ser evitado ou minimizado congelando-se a amostra em nitrogênio líquido e manipulando-a enquanto estiver congelada.

3.5.1. Limpeza e descontaminação de materiais

A descontaminação de materiais é um pré-requisito indispensável para evitar erros devidos à dessorção de contaminantes e/ou adsorção dos analitos na superfície de frascos de reação e armazenagem. Aqui serão apresentados somente os métodos de descontaminação mais clássicos:

Método 1. Descontaminação de frascos de LDPE, PP, PTFE, FEP ou PFA recomendado por Moody e Lindstron.[34]

Este procedimento é um dos mais clássicos da literatura. Segundo os autores o HCl é o melhor ácido para a descontaminação mas, como a eficiência da limpeza varia com o elemento e com o material, recomenda-se a descontaminação adicional com HNO_3. Geralmente não é necessário o uso de ácidos de alta pureza, mas o tempo requerido para a descontaminação pode ser um aspecto crítico. As etapas desse procedimento são:

a) Encher o recipiente com solução aquosa 1 + 1 (v/v) HCl pró-análise;
b) Deixar em repouso por uma semana em temperatura ambiente. Para PTFE a solução ácida deverá ser aquecida a 80 °C;
c) Esvaziar o recipiente e lavar com água desionizada ou destilada;
d) Encher o recipiente com solução aquosa 1 + 1 (v/v) HNO_3 pró-análise;
e) Deixar em repouso por uma semana em temperatura ambiente. Para PTFE a solução ácida deverá ser aquecida a 80 °C;
f) Esvaziar o recipiente e lavar com água desionizada ou destilada;
g) Encher com água da mais alta pureza (água Tipo I);
h) Deixar em repouso por várias semanas e trocar a água periodicamente para garantir a limpeza;
i) Lavar com água Tipo I e secar em capela de fluxo laminar em ambiente ISO Classe 5.

Método 2. Procedimento para limpeza de frascos de polietileno (LDPE) para coleta e armazenamento de águas de alta pureza. Adaptado de Barbante *et al*.[46]

a) Lavar com água de torneira para remover material particulado;
b) Remover gordura com clorofórmio e lavar com água de alta pureza (Tipo I);
c) Deixar em imersão no primeiro banho ácido contendo 1 + 3 (v/v) HNO_3/água ultrapura a 50 °C durante 2 semanas;
d) Lavar com água Tipo I e transferir para segundo banho ácido contendo 1:1000 (v/v) HNO_3/água ultrapura a 50 °C durante 2 semanas;
e) Finalmente, lavar várias vezes com água Tipo I, encher os frascos com HNO_3 de alta pureza e guardá-los em bolsas de polietileno de duas camadas, previamente descontaminadas em banho ácido.

Observa-se também o inconveniente do longo tempo requerido para a descontaminação.

Método 3. Descontaminação com vapores ácidos

Considerado o método mais rápido e mais efetivo na descontaminação de recipientes plásticos ou de quartzo, baseia-se na limpeza com vapores de ácidos nítrico ou clorídrico. O método pode ser implementado nos laboratórios, utilizando-se um sistema fechado, de tal forma que os vapores do ácido se condensem,

principalmente, nas paredes internas dos recipientes, lavando-os continuamente.

A Figura 3.7 mostra o corte de um aparelho desenvolvido para limpeza/descontaminação de materiais (quartzo, PTFE, FEP e TFM®) como balões volumétricos, frascos para armazenamento de soluções, tubos de digestão, copos, entre outros. Em geral, os materiais são limpos com vapor de HNO_3 durante a noite, sendo posteriormente lavados com água de alta pureza (Tipo I), secos e armazenados em ambiente Classe 100.

Segundo Tölg e Tschöpel,[1] a lavagem contínua durante 4-6 h com vapor de HNO_3 e subsequente lavagem com vapor de água durante 1-2 h são suficientes para efetiva descontaminação de vários elementos presentes em diferentes materiais, com exceção do Fe em PTFE.

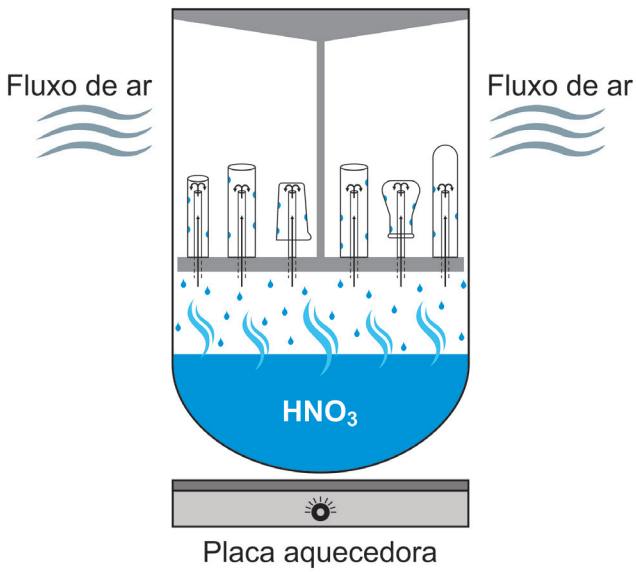

Figura 3.7. Aparelho para limpeza e purificação de frascos com vapor ácido. Adaptada da referência 14. Reproduzida com permissão da Milestone Srl.

A limpeza com vapor de HNO_3 tem sido muito recomendada para a descontaminação de frascos de TFM® e outros materiais de alta pureza utilizados na decomposição de amostras em fornos de micro-ondas. Existem sistemas alternativos no mercado[14] em que o volume interno útil permite a limpeza (descontaminação) de um grande número de frascos, que podem ser mantidos no interior do aparelho até sua utilização. Outros argumentos a favor deste método de limpeza, comparativamente aos métodos que se baseiam na lixiviação dos contaminantes

(frascos cheios com ácidos de alta pureza) é que, além de ser mais rápido, utiliza-se vapor de alta pureza a partir de HNO_3 pró-análise. Segundo Tölg e Tschöpel,[1] após esse procedimento de limpeza, as perdas por adsorção diminuem consideravelmente. Copos de autoamostradores (2-3 mL) podem ser eficientemente descontaminados em frascos de reação utilizados em sistemas de decomposição assistidos por radiação micro-ondas utilizando o mesmo procedimento.[47] A Figura 3.8 mostra um esquema que permite descontaminar até 6 copos em cada frasco, dependendo do volume do frasco de reação e dos copos.

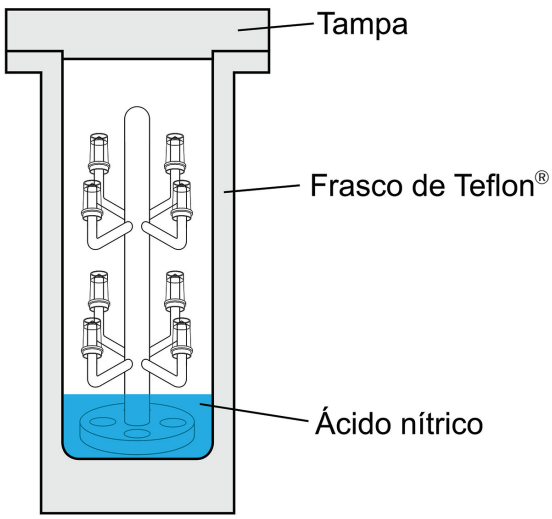

Figura 3.8. Descontaminação de copos de autoamostradores com vapor ácido em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas. Adaptada da referência [47] e reproduzida com permissão da Elsevier.

3.5.2. Uma recomendação para armazenamento/preservação de soluções para determinação de elementos-traço

Um dos melhores trabalhos descritos na literatura sobre amostragem e preservação de amostras de águas, visando à determinação de elementos-traço, contém uma tabela que reúne os métodos utilizados com sucesso no armazenamento das amostras. Parte dos dados compilados por Ralph Sturgeon, Shier Berman e Klaus Kremling[6] são apresentados na Tabela 3.20.

Tabela 3.20. Preservação de amostras de águas naturais para determinação de elementos-traço. Dados selecionados de Sturgeon *et al*.[6]

Elemento	Amostra	Material	Preservação	Período de armazenamento
Zn	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
Cd	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
Pb	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
Cu	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
Ni	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
Fe	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
Mn	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
Cr	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar não filtrada	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 4 anos
As	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses
	Água de mar	Polietileno	pH 1,6; 23°C	> 3 anos
Se	Água de rio filtrada	Polietileno	pH 1,6; 5°C	> 18 meses

3.6. ERROS DEVIDOS À DECOMPOSIÇÃO OU DISSOLUÇÃO INCOMPLETA DAS AMOSTRAS

3.6.1. Erros devidos à decomposição incompleta de materiais orgânicos

Quando se decompõe uma amostra, é possível a obtenção de soluções verdadeiras (*i.e.* observa-se por inspeção visual somente uma fase), que podem ser ou não compatíveis com os métodos de determinação escolhidos. Em alguns casos, o analito pode estar na forma de um complexo solúvel que não reage com um reagente cromogênico, ou que interfere na sua determinação. Em outros, o alto teor de carbono residual poderá afetar a exatidão dos resultados analíticos. As interferências podem ser previstas, e devidamente evitadas, dependendo da amostra e do método de decomposição escolhido.

Amostras orgânicas são usualmente decompostas completamente quando reagem com ácido nítrico sob alta pressão (> 25 bar). Proteínas e gorduras (*e.g.* carnes, leite), entretanto, produzem resíduos orgânicos,[48,49] os quais não são decompostos pelo ácido nítrico se a temperatura for de apenas 180 °C. Carboidratos puros (*e.g.* açúcar e celulose) são completamente oxidados pelo ácido nítrico a 180 °C e, nesses casos, baixas concentrações de metais, que permanecem nas cinzas, podem ser determinadas por voltametria de redissolução anódica, por exemplo, ou por outras técnicas analíticas. Soluções praticamente isentas de carbono residual também são obtidas quando gorduras que não contêm ácidos graxos insaturados são decompostas. Entretanto, se as gorduras a serem digeridas possuírem ácido linoléico ou ésteres do ácido linolênico, o ácido 1,2-ciclopropanodicarboxílico é formado pela reação com ácido nítrico, sendo estável na solução resultante (digerido) e permanecendo como resíduo ou carbono residual.

A decomposição de substâncias contendo proteínas (e de todas as substâncias contendo aminoácidos) produz ácidos benzóicos nitrificados, formados a partir da fenilalanina pela digestão com ácido nítrico, os quais são eletroativos. Como outros produtos da decomposição de aminoácidos permanecem nos digeridos, além dos ácidos nitrobenzóicos, interferências são igualmente esperadas, à semelhança do que ocorre na decomposição de amostras contendo ácidos linoléico e linolênico.[48,49]

É importante lembrar que, mesmo aumentando-se o tempo de reação e o volume de ácido nítrico, não ocorrerá a mineralização desses resíduos orgânicos se a decomposição for feita entre 180 e 200 °C. Entretanto, Würfels *et al.*[48,49] observaram que, quando as decomposições eram feitas com HNO_3 a 300 °C, os teores de carbono residual diminuíam consideravelmente e deixavam de interferir em medições feitas por técnicas eletroanalíticas. Sinais de onda quadrada para Zn, Cd, Pb e Cu obtidos por voltametria de redissolução anódica, empregando-se digeridos de amostras de alga (NIES - Material certificado de referência de *Sargassum fulvellum* Nr. 9) e mexilhão (NIES - Material certificado de referência de *Mytilus edulis* Nr. 6), indicaram que não permaneciam resíduos orgânicos indesejáveis na solução resultante (Figura 3.9). De fato, quando as digestões eram feitas a 180 °C, os teores de carbono residual variavam entre 2 e 4 %; após a digestão a 300 °C, o teor de carbono residual foi menor que 0,2%. Antes das determinações, as soluções foram evaporadas à secura para remover o NO_2 dissolvido, o qual interferiria nas determinações voltamétricas.[48,49]

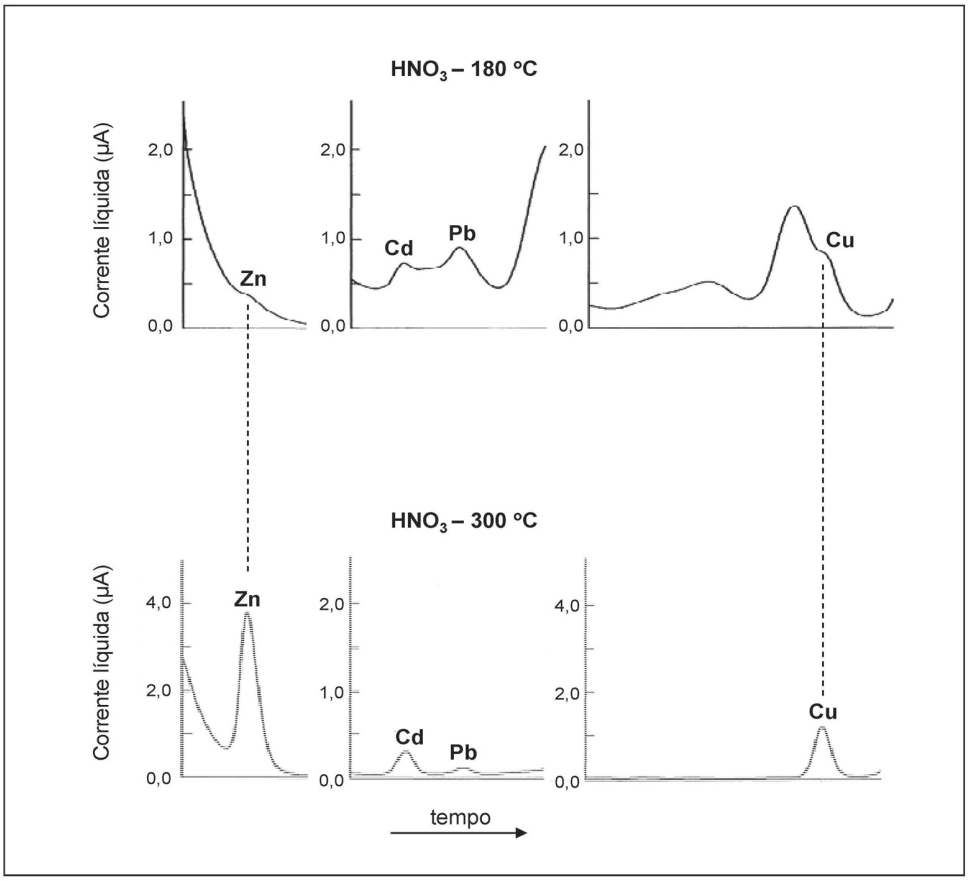

Figura 3.9. Sinais de zinco, cádmio, chumbo e cobre obtidos por voltametria de redissolução anódica em amostras digeridas com HNO_3 em sistema fechado a 180 e 300 °C. Adaptada da referência 48. Dados reproduzidos com permissão da Springer.

Normalmente, os compostos orgânicos não digeridos não afetam as técnicas de espectrometria atômica, mesmo quando os teores de carbono residual são relativamente elevados (*e.g.* 10-30%). Entretanto, o carbono residual elevado pode contribuir para aumentar o sinal de absorção de fundo em espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, nos casos em que a etapa de pirólise não completar a decomposição. No caso da determinação elementar por ICP OES, altos teores de carbono, assim como fósforo e enxofre, podem causar interferências espectrais (aumento na intensidade dos sinais de emissão dos analitos) devido a reações de transferência de carga.[50]

Recentemente, em estudo realizado por Wiltsche *et al.*[51], interferências positivas causadas pelo excesso de carbono foram observadas na emissão de 157 linhas de 36 elementos em ICP OES. Os teores elevados de carbono foram alta-

mente dependentes da instrumentação utilizada, sendo devidos, basicamente, à combinação de 5 fatores: (i) perturbações na nebulização, dependendo da fonte de carbono presente na amostra; (ii) reações de troca de cargas induzidas pelo carbono residual; (iii) variações na impedância do plasma causadas pelas altas quantidades de carbono; (iv) efeito de pinçamento térmico (do ingles "*thermal pinch effect*"), causando diminuição no volume do ICP e (v) o estado da matéria (gás ou líquido) das fontes de carbono introduzidas no plasma.

Uma outra fonte de erro, que pode afetar todos os métodos espectrométricos que empregam nebulização de amostras, são as mudanças na viscosidade e na tensão superficial da solução a ser analisada. Diferenças apreciáveis na nebulização de soluções de referência e das amostras são fontes de erros sistemáticos substanciais. Mais importante, entretanto, são as interferências isobáricas causadas por íons moleculares contendo carbono em ICP-MS. Essas interferências são facilmente constatadas em espectrômetros de média resolução sem dispositivos ou acessórios para minimizá-las (Tabela 3.21).

Tabela 3.21. Interferências espectrais em espectrometria de massas causadas pela presença de carbono residual. Dados compilados da referência 52.

Massa	Íon interferente	Analito (% abundância)
24	$^{12}C^{12}C^+$	^{24}Mg (78,6)
26	$^{12}C^{14}N^+$	^{26}Mg (11,3)
28	$^{12}C^{16}O^+$	^{28}Si (92,2)
48	$^{12}C^{36}Ar^+$	^{48}Ca (0,18) e ^{48}Ti (73,5)
52	$^{12}C^{40}Ar^+$	^{52}Cr (83,8)
53	$^{13}C^{40}Ar^+$	^{53}Cr (9,6)

Geralmente, para se oxidar amostras biológicas quase completamente, independentemente de sua composição química, pode-se fazer uma digestão utilizando somente HNO_3 a 300 °C durante 2 h, conforme sugerido por Würfels *et al.*,[49] ou empregar outras estratégias de preparo que são descritas nos Capítulos 9-12. No método proposto por Würfels *et al.*,[49] acima de 99,9% do conteúdo original em carbono da amostra podem ser oxidados, *i.e.* as soluções resultantes apresentarão baixos teores de carbono residual.

É oportuno observar que também são esperados erros causados pelas variações no teor de ácido residual que podem ser observadas nas soluções obtidas por

métodos de decomposição por via úmida em sistemas abertos. As situações mais críticas são observadas em ICP-MS, dependendo do ácido e sua concentração na solução da amostra. Na Tabela 3.22 observa-se que interferências causadas pelo ácido nítrico não são críticas, formando-se somente o íon ArN^+, que irá interferir nas medidas dos isótopos de massa 54 dos íons Fe^+ e Cr^+. Nesse caso, elegem-se outros isótopos do Fe e do Cr, mais abundantes, e que não sofrem interferências. Ademais, teores residuais de ácidos perclórico ou clorídrico podem comprometer totalmente as determinações de vanádio e de arsênio por ICP-MS. Entretanto, cabe observar que interferências isobáricas podem ser superadas por estratégias como câmaras de reação/colisão ou espectrômetros de alta resolução.

Tabela 3.22. Interferências isobáricas em diferentes meios ácidos. Dados compilados da referência 52.

Ácido	Íons	m/z	Íon do analito (% de abundância)
HNO_3	N^+	14	
	ArN^+	54	$^{54}Fe^+$ (5,8)
			$^{54}Cr^+$ (2,3)
HCl, $HClO_4$	Cl^+	35 e 37	
	ClO^+	51	$^{51}V^+$ (99,7)
		53	$^{53}Cr^+$ (9,6)
	$ArCl^+$	75	$^{75}As^+$ (100)
		77	$^{77}Se^+$ (7,6)
H_2SO_4	S^+	32, 33 e 34	-----
	SO^+	48	$^{48}Ti^+$ (74,0)
		49	$^{49}Ti^+$ (5,5)
		50	$^{50}Ti^+$ (5,2)
	SO_2^+	64	$^{64}Zn^+$ (48,9)
			$^{64}Ni^+$ (1,2)
		65	$^{65}Cu^+$ (30,9)
		66	$^{66}Zn^+$ (27,8)

m= massa, z = carga

3.6.2. Erros devidos à dissolução/decomposição incompleta das amostras inorgânicas

Um dos erros mais sérios durante a dissolução de algumas amostras é aquele que ocorre com amostras inorgânicas polifásicas, particularmente aquelas com composição química desconhecida, quando uma ou mais fases individuais resiste aos agentes escolhidos para a decomposição. No caso de sólidos inorgânicos, a resis-

tência à dissolução depende do tipo de solvente utilizado, mas algumas substâncias não são dissolvidas mesmo em sistemas fechados com ácidos concentrados sob altas pressões e temperaturas, como nitreto de boro, carbeto de silício e topázio. Um aumento na solubilidade dos materiais está, geralmente, relacionado a mudanças na estrutura cristalina da substância a ser analisada, além de sua área superficial e porosidade.[53] Nesse sentido, é imprescindível que se conheçam previamente os métodos de decomposição a serem empregados e suas limitações. Em alguns casos, a dissolução é completa, mas as perdas por volatilização são consideráveis, como as que ocorrem nas decomposições por fusão.

3.6.3. Outros erros

3.6.3.1. Perdas de analitos por interações com frascos de reação

Outra fonte de erro resulta da reação de componentes da amostra com os materiais empregados em alguns métodos de decomposição, particularmente quando as decomposições são feitas em cadinhos. A dimensão das perdas depende da temperatura, do material do cadinho e da composição da amostra. Se o cadinho for de porcelana ou sílica, por exemplo, o elemento pode reagir e ficar aderido nas paredes, sendo perdido neste tipo de pré-tratamento. Silicatos, fosfatos e óxidos combinam-se facilmente com o esmalte dos cadinhos de porcelana e, por essa razão, é preferível trabalhar com cadinhos de platina. Por outro lado, cadinhos de platina podem formar ligas com metais nobres.

3.6.3.2. Perdas de analitos e contaminação durante lavagem de amostras

Aplica-se, particularmente, à lavagem de vegetais, como folhas, raízes e frutos, para remover contaminantes. As lavagens podem ser feitas conforme discutido no Capítulo 4, mas deve-se tomar o cuidado com possíveis perdas por lixiviação e contaminações. Nesse sentido, recomenda-se a leitura do artigo de Markert,[54] que faz uma boa revisão sobre esse tema. Quando a lavagem é imprescindível, as perdas por lixiviação podem ser minimizadas reduzindo o tempo de lavagem. Em geral, a lavagem ultrassônica não é recomendável por potencializar as perdas por lixiviação (vide Capítulo 6). Para evitar a contaminação durante a lavagem, deve-se usar água de alta pureza Tipo I.

REFERÊNCIAS

1. TÖLG, G.; TSCHÖPEL, P. **Systematic Errors in Trace Analysis**. In: Alfassi, Z. E., Eds, **Determination of trace elements**, Weinheim: Verlag, 1994. p. 1-38.
2. ABBEY, S. Reliability in the analysis of rocks and minerals. **Analytical Chemistry**, 53, 528A–534A, 1981.
3. SENISE, P. E. A. A química analítica na formação do químico. **Química Nova**, 5, 137-143, 1982.
4. LAMBERTY, A.; NEVEL, L. V.; MOODY, J. R.; DE BIÈVRE, P. The IRMM - International Measurement Evaluation Programme, IMEP. **Accreditation and Quality Assurance**, 1, 71-82, 1996.
5. VAN NEVEL, L.; TAYLOR, P. D. P.; ORNEMARK, U.; MOODY, J. R.; HEUMANN, K. G.; DE BIEVRE, P. The International Measurement Evaluation Programme (IMEP) IMEP-6: "Trace elements in water". **Accreditation and Quality Assurance**, 3, 56-68, 1998.
6. STURGEON, R.; BERMAN, S. S.; KREMLING, K. Sampling and storage of natural water for trace metals. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 18, 209-244, 1987.
7. GY, P. Sampling of discrete materials - a new introduction to the theory of sampling: I. Qualitative approach. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 74, 7-24, 2004.
8. ESBENSEN, K. H.; RAMSEY, C. A. QC of Sampling Processes - A First Overview: From Field to Test Portion. **Journal of AOAC International**, 98, 282-287, 2015.
9. ESBENSEN, K. H.; WAGNER, C. Theory of sampling (TOS) versus measurement uncertainty (MU) – A call for integration. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 57, 93-106, 2014.
10. PETERSEN, L.; DAHL, C. K.; ESBENSEN, K. H. Representative mass reduction in sampling - a critical survey of techniques and hardware. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 74, 95-114, 2004.
11. RAMSEY, M. H.; THOMPSON, M. Uncertainty from sampling, in the context of fitness for purpose. **Accreditation and Quality Assurance**, 12, 503-513, 2007.
12. BODE, P. Apontamentos de aula da Disciplina Metrologia (CEN5761), PPG em Ciências CENA-USP. Interfaculty Reactor Institute, Delft University of Technology, 2005.
13. MURPHY, T. **The Role of Analytical Blank in Accurate Trace Analysis**. In: LaFleur, P. D., Eds, **National Bureau of Standards Special Publication 422: Accuracy in Trace Analysis: Sampling, Sample Handling, and Analysis**, Gaithersburg, Maryland: National Bureau of Standards, 1976. p. 509-539.
14. RICHTER, R. C.; NÓBREGA, J. A.; PIROLA, C. **Think Blank - Clean Chemistry Tool for Atomic Spectroscopy**. Sorisole: Milestone Press, 2016. 102 p.

15. KINGSTON, H. M.; WALTER, P. J.; CHALK, S.; LORENTZEN, E.; LINK, D. **Environmental Microwave Sample Preparation: Fundamentals, Methods, and Applications**. In: Kingston, H. M.; Haswell, S. J., Eds, **Microwave-Enhanced Chemistry - Fundamentals, Sample preparation, and Applications**, Washington American Chemical Society, 1997. p. 223-349.

16. KNAPP, G. **Systematic errors in sample preparation**. In: Krug, F. J., Eds, **I Workshop sobre Métodos de Decomposição de Amostras**, Piracicaba, Brazil: 1996. p. 12.

17. TSCHÖPEL, P. Comunicação pessoal. 1989.

18. BENETT, E. S. F. E o impacto de uma norma ISO na classificação de salas limpas. **Revista da Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**, 6, 20-23, 1998.

19. TSCHÖPEL, P.; KOTZ, L.; SCHULZ, W.; VEBER, M.; TÖLG, G. Causes and elimination of systematic errors in the determination of elements in aqueous solutions in the ng/mL and pg/mL range. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 302(1), 1-14, 1980.

20. MOODY, J. R. NBS Clean laboratories for trace element analysis. **Analytical Chemistry**, 54, 1358A-1376A, 1982.

21. DARLING, R. B. EE-527: MicroFabrication - Clean rooms. Department of Electrical Engineering, Universtity of Washington.

22. PENG, F.; TU, G. Estudo de salas limpas em fluxo unidirecional local. **Revista da Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**, 3, 29-32, 1999.

23. RICHTER, R. **Clean Chemistry. Techniques for Modern Laboratories**. Monroe, Connecticut: Milestone Press, 2003. 96 p.

24. SANSONI, B.; IYENGAR, G. V. **Sampling and Storage of Biological Materials for Trace Element Analysis** In: Eds, **Elemental Analysis of Biological Materials: Current Problems and Techniques With Special Reference to Trace Elements (IAEA Technical Report 197)**, Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency, 1980. p. 57-71.

25. IYENGAR, G. V.; KOLLMER, W. E.; BOWEN, H. J. M. **The Elemental Composition of Human Tissues and Body Fluids**. Weinheim: Verlag Chemie, 1978. 151 p.

26. HAMILTON, E. I.; MINSKI, M. J.; CLEARY, J. J. Problems concerning multi-element assay in biological materials. **Science of the Total Environment**, 1, 1-14, 1973.

27. MAIENTHAL, E. J. **Technical Note 545**. In: J.K., T., National Bureau of Standards, 1970. p. 53-54.

28. DARBOURET, D.; KANO, I. Ultrapure water for elemental analysis down to ppt levels. Millipore, R&D Notebook RD002. 1998.

29. DARBOURET, D.; KANO, I. Ultrapure water for elemental analysis down to ppt levels. **Acta Physica Polonica A**, 116, S-203-S205, 2009.

30. IYENGAR, G. V.; SANSONI, B. **Sample Preparation of Biological Materials for Trace Element Analysis**. In: Eds, **Elemental Analysis of Biological Materials: Current Problems and Techniques With Special Reference to Trace Elements (IAEA Technical Report 197)**, Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency, 1980. p. 73-101.

31. KUEHNER, E. C.; ALVAREZ, R.; PAULSEN, P. J.; MURPHY, T. J. Production and analysis of special high-purity acids purified by subboiling distillation. **Analytical Chemistry**, 44, 2050-2056, 1972.

32. PAULSEN, P. J.; BEARY, E. S.; BUSHEE, D. S.; MOODY, J. R. Analysis of ultrapure reagents from a large sub-boiling still made of teflon PFA. **Analytical Chemistry**, 61, 827-830, 1989.

33. MOODY, J. R.; WISSINK, C. W.; BEARY, E. S. Design principles for a large high-efficiency sub-boiling still. **Analytical Chemistry**, 61, 823-827, 1989.

34. MOODY, J. R.; LINDSTROM, R. M. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples. **Analytical Chemistry**, 49, 2264-2267, 1977.

35. HEYDORN, K.; DAMSGAARD, E. Gains or losses of ultratrace elements in polyethylene containers. **Talanta**, 29, 1019-1024, 1982.

36. RETSCH. **The Art of Milling**. Haan: Retsch GmbH, 2008. 55 p.

37. NÓBREGA, J. A. Técnicas de moagem: aspectos gerais e práticos. São Paulo: Conferência ministrada no V Workshop sobre Preparo de Amostras, 2004.

38. POUZAR, M.; KREJCOVA, A.; CERNOHORSKY, T.; PESKOVA, K. Study of contamination sources in the process of cryogenic grinding. **Talanta**, 76, 254-258, 2008.

39. PERUCHI, L. C.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A. D.; GUERRA, M. B. B.; ALMEIDA, E.; RUFINI, I. O.; JR, D. S.; KRUG, F. J. Determination of inorganic nutrients in wheat flour by laser-induced breakdown spectroscopy and energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 100, 129–136, 2014.

40. SURYANARAYANA, C. Mechanical alloying and milling. **Progress in Materials Science**, 46, 1-184, 2001.

41. RETSCH. Materials and Material Analysis. Disponível em: pdf.directindustry.com/pdf/retsch/material-analyses-equipment-accessories/19308-454347.html.

42. LIDE, D. R. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 84 ed. Cleveland, Ohio: CRC Press, 2004.

43. COSTA, A. C. S. **Métodos de decomposição por fusão**. In: Krug, F. J., Eds, **I Workshop sobre Métodos de Decomposição de Amostras**, Piracicaba, Brazil: 1996. p. 20.

44. REITZNEROVA, E. **A Handbook of Microwave Fusion Preparation Methods**. USA: CEM Corporation, 1995. 43 p.

45. MASSEE, R.; MAESSEN, F. J. M. J.; DE GOEIJ, J. J. M. Losses of silver, arsenic, cadmium, selenium and zinc traces from distilled water and artificial sea-water by sorption on various container surfaces. **Analytica Chimica Acta**, 127, 181-193, 1981.

46. BARBANTE, C.; BELLOMI, T.; MEZZADRI, G.; CESCON, P.; SCARPONI, G.; MOREL, C.; JAY, S.; VAN DE VELDE, K.; FERRARI, C.; BOUTRON, C. F. Direct determination of heavy metals at picogram per gram levels in Greenland and Antarctic snow by double focusing inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 12, 925-931, 1997.

47. BARNES, R. M.; QUINÁIA, S. P.; NÓBREGA, J. A.; BLANCO, T. A fast microwave-assisted, acid-vapor, steam-cleaning procedure for autosampler cups. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 53, 769-771, 1998.

48. WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E.; STOEPPLER, M. About the problem of disturbances of inverse voltammetric trace analysis after pressure decomposition of biological samples. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie**, 329, 459-461, 1987.

49. WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E.; STOEPPLER, M. On the composition of biological materials after pressure digestion with nitric acid. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie**, 330, 160-161, 1988.

50. GRINDLAY, G.; GRAS, L.; MORA, J.; LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. D. Carbon-, sulfur-, and phosphorous-based charge transfer reactions in inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 115, 8-15, 2016.

51. WILTSCHE, H.; WINKLER, M.; TIRK, P. Matrix effects of carbon and bromine in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 2223-2234, 2015.

52. TAN, S. H.; HORLICK, G. Background spectral features in inductively coupled plasma mass- spectrometry. **Applied Spectroscopy**, 40, 445-460, 1986.

53. SULCEK, Z.; POVONDRA, P. **Methods of decomposition in Inorganic Analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 336 p.

54. MARKERT, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. **Science of the Total Environment**, 176, 45-61, 1995.

Capítulo 4

TRATAMENTOS PRELIMINARES

Dário Santos Júnior
Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho
Marcelo Braga Bueno Guerra
Marcos da Silva Gomes
Marcos Yassuo Kamogawa
Francisco José Krug

A maioria dos materiais requer etapas de tratamento preliminares antes do preparo efetivo das amostras teste. Estas etapas são necessárias dependendo do estado em que as amostras são coletadas e, em alguns casos, podem ser realizadas antes e/ou depois das amostras serem entregues ao laboratório analítico. A maioria destes tratamentos envolve métodos predominantemente físicos, como limpeza, secagem, moagem e peneiramento, os quais serão discutidos neste capítulo.

4.1. LIMPEZA

A operação de limpeza é a primeira etapa entre a amostragem e a medida instrumental.[1] Esta etapa é fundamental pela remoção de contaminantes superficiais das amostras laboratoriais, os quais podem levar a resultados superestimados na determinação dos analitos. A etapa de limpeza deve ser conduzida com atenção para que não se remova, por meio da lixiviação, os analitos presentes nas amostras. Além disso, este tratamento preliminar deve evitar alteração na forma química do analito. Por exemplo, há uma controvérsia na literatura no que diz respeito à lavagem de amostras de cabelo para a posterior quantificação elementar. Há estudos[2] que propõem a lavagem dessas amostras com detergentes, agentes complexantes, como o EDTA, ou até mesmo com solução 1 % (v/v) HNO_3. Por outro lado, LeRoy[3] ao avaliar a influência da lavagem de amostras de cabelo para a posterior determinação de 15 elementos por espectrometria de absorção atômica, observou que a lavagem por apenas 10 min com água destilada já ocasionava perdas substanciais de Ca, Mg, Na e K. Do mesmo modo, Assarian e Oberleas,[4] ao investigarem a influência da lavagem utilizando detergentes, mistura de etanol e hexano ou de acetona, éter e detergente, também observaram perdas significativas de Cu, Zn e especialmente de Mg. Especialistas da Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR*, Estados Unidos) apontaram as dificuldades no procedimento de lavagem de amostras de cabelo e relataram que não há na literatura um método confiável que seja capaz de eliminar as fontes de contaminação externas sem afetar a fração elementar interna.[5] Um exemplo claro discutido no relatório foi a determinação de As, pois ao se promover uma lavagem mais branda, a contaminação exógena será mantida, mas ao se conduzir uma lavagem mais agressiva, parte da fração endógena poderá ser removida.

Dessa forma, na análise deste tipo de matriz, deve-se reportar detalhadamente o protocolo utilizado para a limpeza com a finalidade de tornar o método reprodutível em outros laboratórios.[5]

No caso da análise de material vegetal, dependendo do propósito da investigação analítica, o procedimento de limpeza deve ser evitado. Por exemplo, se o objetivo da análise é a determinação das taxas de absorção de elementos por animais herbívoros, não se deve lavar a superfície das plantas a serem analisadas, uma vez que a fração total ingerida pelo animal compreende tanto a porção proveniente da contaminação superficial, quanto àquela relacionada à própria constituição da matriz. Por outro lado, se a análise visa à elucidação da taxa de transferência de elementos químicos do solo para as plantas, a limpeza superficial do material vegetal torna-se fundamental.[1] Para a análise de tecidos vegetais visando à diagnose nutricional, a lavagem é uma etapa crucial para a eficiente remoção de contaminantes aderidos à superfície do material. A lavagem inadequada pode acarretar em resultados inexatos devido à contaminação das folhas por várias fontes, tais como inseticidas, fungicidas e fertilizantes aplicados via foliar. A escolha da solução mais apropriada para a lavagem das folhas dependerá das características peculiares do tecido foliar, tais como a textura, além da natureza do contaminante presente na superfície das folhas. As soluções mais empregadas para a lavagem são água destilada ou deionizada, detergentes, ou até mesmo ácidos diluídos e soluções salinas acrescidas de peróxido de hidrogênio.[6]

Na aplicação de técnicas analíticas em análise direta de sólidos, como a fluorescência de raios X (XRF, do inglês *X-ray fluorescence*) e aquelas que envolvem o uso de *lasers,* como a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por *laser* (LIBS, do inglês: *laser-induced breakdown spectroscopy*), a ablação a *laser* acoplada ao ICP-MS (LA-ICP-MS, do inglês: *laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*), ou a ablação a *laser* acoplada ao ICP OES (LA-ICP OES, do inglês: *laser ablation inductively coupled plasma optical emission spectrometry*), a operação de limpeza é ainda mais crítica. A resposta analítica advinda do uso de tais técnicas instrumentais é fortemente influenciada pela composição química superficial das amostras teste analisadas. Esta peculiaridade é importante quando se analisam amostras de ligas de metais nobres, tais como Ag e Au, provenientes de materiais arqueológicos. Tais ligas sofrem naturalmente um processo de enriquecimento elementar superficial.[7,8] Assim, ao analisar amostras de moedas antigas de Ag-Cu por

XRF, o sinal obtido não será representativo da amostra, devido à ocorrência deste processo.[8,9] Moreno-Suárez *et al.*[10] testaram 5 diferentes procedimentos de limpeza de moedas antigas compostas por ligas de prata para determinação elementar por XRF. Uma solução 10 % (m/v) do sal de Rochelle (*i.e.* tartarato de sódio e potássio) foi a mais apropriada para a limpeza por imersão das amostras.

Quando LIBS, LA-ICP-MS ou LA-ICP OES são empregados na análise direta de amostras sólidas, o procedimento de limpeza poderá ser facilitado por meio de uma etapa de pré-ablação, na qual a camada superficial da amostra teste é removida por um ou mais pulsos do *laser*. O sinal obtido durante a pré-ablação é descartado e a superfície interna do material é exposta aos próximos pulsos do *laser,* sendo utilizada para a análise propriamente dita.[11,12] Há diversas aplicações nas quais a etapa de pré-ablação é importante na limpeza da superfície das amostras. Por exemplo, Axelsson *et al.*[13] analisaram concreções ferro-manganosas por LA-ICP-MS; o preparo envolveu o corte das amostras com o uso de uma serra de precisão. Todavia, o desgaste da lâmina desta serra ocasionou uma severa contaminação da superfície das amostras por Cu e Sn, eliminada com uso da pré-ablação.

Amostras coletadas em cenas de crime, tais como fragmentos de vidro, são importantes em investigações forenses, pois fornecem evidências científicas que permitem a associação entre o indivíduo infrator e a ocorrência criminal.[14] Isto é possível devido ao grande potencial de discriminação de amostras de vidro segundo a sua origem manufatureira, baseando-se na composição química das mesmas.[15] A determinação elementar destas amostras pode ser conduzida por vários métodos que permitem a análise direta de sólidos, tais como os citados anteriormente.[16,17] A limpeza dos fragmentos de vidro previamente à análise química é usualmente conduzida com metanol seguida de solução diluída de ácido nítrico.[18,19] No caso das técnicas que usam *laser*, a pré-ablação também pode ser utilizada com sucesso para atingir este objetivo.

4.2. SECAGEM

A operação de secagem até massa constante é comum para amostras sólidas que apresentem água em quantidade variável. Este tratamento prelimi-

nar desempenha um papel fundamental na análise química, pois permite a preservação das amostras pela inibição da atividade microbiana, além de possibilitar a expressão dos resultados analíticos em massa seca.[1] Em muitos casos (*e.g.* solos, rochas, minérios e sedimentos), a secagem pode ser feita a 105 °C, desde que não haja riscos de perdas de elementos por volatilização ou de decomposição térmica das amostras. Alguns minerais, como aluminatos e silicatos, podem necessitar de temperaturas maiores que 1000 °C. Materiais biológicos são, em geral, secos em estufa (*e.g.* 60 a 65 °C) e com circulação forçada de ar. Todavia, para a determinação de espécies químicas altamente voláteis, a secagem deve ser conduzida entre 40 e 50 °C.[1] Alternativamente, a secagem pode ser feita em dessecador, ou por liofilização. Neste processo, a amostra é congelada entre -80 e -60 °C, e posteriormente a água é removida por sublimação sob pressão reduzida (*i.e.* abaixo de 100 Pa).[20] A liofilização destaca-se dos demais métodos de secagem, visto que é feita a partir da amostra congelada, ou seja, em uma forma quimicamente menos ativa. Além disso, por ser conduzido sob vácuo, este método também minimiza os efeitos da oxidação de espécies químicas. Por esses motivos, a liofilização é o método de secagem mais apropriado no processamento de produtos termicamente sensíveis, tais como enzimas e proteínas.[21]

No caso particular de vegetais, a secagem é feita em sacos de papel ou de algodão, em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C, por um período de 48 h ou até peso constante. Para silagens, a secagem deve ser feita a 45 °C por 72 h. A carga da estufa deve ser estabelecida de tal modo que a circulação interna do ar não seja prejudicada. Amostras que serão analisadas frescas devem ser colocadas em sacos plásticos, sendo, então, retirado o ar e congeladas até a sua manipulação. Em alguns casos, a pré-secagem é necessária quando a amostra possui alto teor de umidade. Após secagem, retira-se a bandeja ou o saco de papel da estufa, mantendo-se sob as condições ambientais do laboratório por, pelo menos, 1 h. Esse tempo é necessário para que a umidade da amostra entre em equilíbrio com a umidade do ambiente, atingindo peso constante, e para evitar erros de pesagem. Para o controle de qualidade de grãos, nas indústrias é adotada a pré-secagem a 45 °C por 24 h, seguida de trituração e secagem em estufa por 1 h a 130 °C para a determinação da matéria seca. Recomenda-se consultar monografia especializada editada por Nogueira e Souza.[22]

Uma alternativa interessante é a secagem de material vegetal em forno de micro-ondas. Neste caso, o tempo de secagem pode ser drasticamente reduzido

(*e.g.* 5 min), aumentando substancialmente a frequência analítica.[23,24] A secagem é conduzida pela aplicação de ciclos curtos de aquecimento, com duração entre 30 e 60 s, para evitar a formação de pontos de superaquecimento, o que poderia levar à carbonização do material. Ao final de cada ciclo, as amostras são pesadas e o procedimento é repetido até que se atinja peso constante. As vantagens desse método devem-se ao modo de aquecimento, pois as moléculas do solvente absorvem diretamente a radiação micro-ondas e volatilizam-se sem que o recipiente que contém a amostra sofra acréscimo substancial de temperatura. Isto contribui para agilizar o procedimento de pesagem, pois o tempo requerido para o resfriamento, dentro do dessecador, será minimizado.[21] Também existe a possibilidade de conduzir a secagem assistida por radiação micro-ondas sob pressão reduzida.[25] A vantagem deste método é a possibilidade de remoção da água das amostras a temperaturas mais baixas, minimizando tanto a perda, quanto a decomposição de espécies orgânicas voláteis, e evitando a ocorrência de pontos de superaquecimento.[21]

Outro método de secagem, bastante disseminado no meio industrial, emprega radiação no infravermelho.[26-28] Dentre as características atraentes deste método, merecem destaque: i) rapidez do processo de secagem; ii) redução de consumo de energia elétrica; iii) menores custos de aquisição quando comparado aos métodos de liofilização e aqueles que envolvem radiação micro-ondas e iv) distribuição mais uniforme da temperatura. Além disso, a secagem assistida por radiação no infravermelho pode ser facilmente associada a outros métodos de secagem.[28] No entanto, uma limitação deste método está relacionada à baixa capacidade de penetração das ondas infravermelhas, qualificando-o como um método de aquecimento superficial.[29]

É importante recordar que, dependendo dos elementos a serem determinados, a secagem deverá ser feita em ambientes limpos (ISO Classe 5, Classe 6 ou Classe 7), os quais são discutidos no Capítulo 3.

4.3. MOAGEM

A etapa de moagem é frequentemente necessária porque as amostras finamente moídas são mais homogêneas. A homogeneidade pode ser avaliada estatisti-

camente, elemento por elemento, numa determinada massa de amostra. A relação entre homogeneidade e massa da alíquota amostrada é abordada no Capítulo 5. Além disso, a diminuição no tamanho das partículas aumenta a área superficial específica, facilitando processos de dissolução, de digestão e de extração.

Em geral, a moagem pode ser classificada como grosseira ou fina, que resulta em partículas de aproximadamente 5 mm e 63 μm, respectivamente, e a moagem extrafina, com partículas < 63 μm.[1] Com relação ao tamanho das partículas, pode-se usar a seguinte classificação: gigante (> 300 mm), macro (30 - 300 mm), grande (10 - 30 mm), médio (1 - 3 mm), pequeno (0,1 - 3 mm), fino (0,1 - 0,3 mm), denso (0,03 - 0,1 mm), microcristalino (1 - 30 μm), criptocristalino (0,1 - 1 μm) e cristalino raio-X (< 0,1 μm).

Os diferentes tipos de moinho diferem na capacidade (*i.e.* massa de amostra), rendimento operacional (*i.e.* amostras moídas por unidade de tempo), temperatura de operação, e composição das peças de moagem. A escolha do moinho depende de muitos fatores, tais como o tamanho desejado das partículas, o tipo e quantidade de amostra disponível, capacidade do moinho, velocidade de moagem, constituição final do produto moído e elemento a ser determinado.

Os diferentes moinhos existentes fundamentam-se em princípios como pressão, fricção, impacto, cisalhamento e corte.[30] A redução do tamanho de partícula por pressão é usada em moinhos do tipo trituradores oscilantes/vibratórios, ou de martelo, no qual amostras são esmagadas entre duas superfícies rígidas, produzindo uma redução preliminar de amostras duras e rígidas, como minérios, vidros e cerâmicas.

A pressão combinada à fricção é explorada em moinhos do tipo almofariz, com disco em movimento orbital ou com rolos, em que a amostra é pressionada entre duas superfícies rígidas seguidas por um movimento lateral que fricciona a amostra, obtendo partículas bastante reduzidas, como pode ser observado na comparação entre moinhos na Figura 4.1.

A redução da partícula por impacto, associada ou não com pressão e fricção, pode ser realizada de formas diversas, como a projeção da amostra sobre uma superfície rígida ou outra partícula da amostra (*e.g.* moinhos centrífugos e moinhos de energia fluida); uma superfície em velocidade elevada chocando-se contra a amostra (*e.g.* moinhos de disco ou pinos); ou pelo uso de bolas ou barras de moagem (*e.g.* moinhos com bolas, moinhos de mistura e moinhos criogênicos).

Amostras macias, elásticas ou fibrosas, em geral, tem seu tamanho reduzido com o uso de moinhos de corte (*e.g.* moinho de facas, processadores e liquidificadores) ou de cisalhamento (moinhos centrífugos e moinhos com rotor de impacto). A amostra fixa sobre uma superfície é sucessivamente cortada/cisalhada por lâminas rígidas que se movem em sentido oposto à amostra, produzindo partículas cada vez menores.

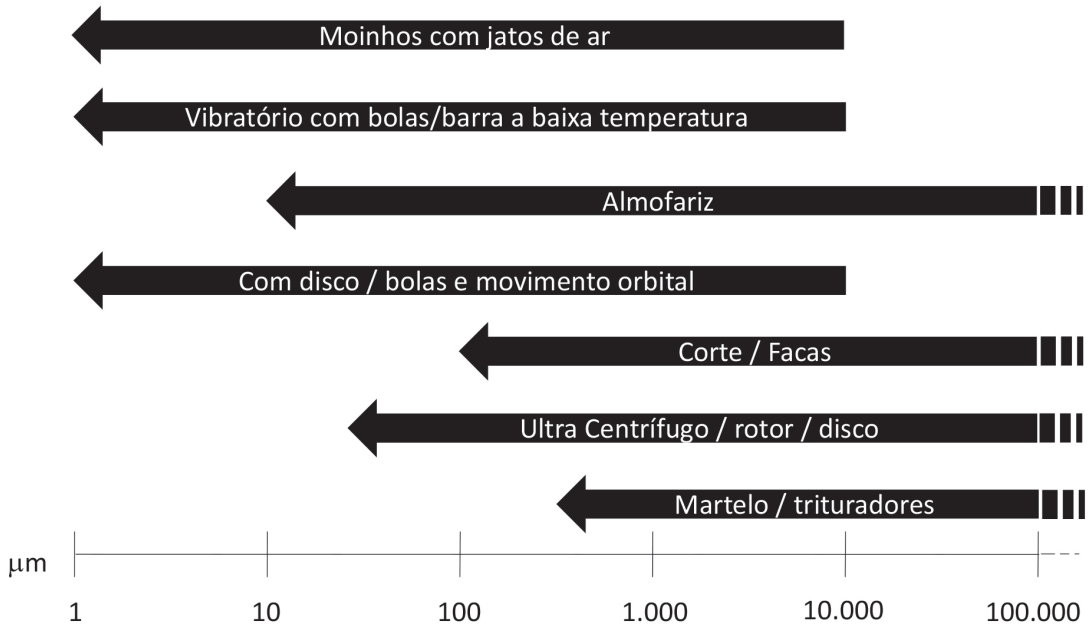

Figura 4.1. Distribuição do tamanho de partículas de amostras processadas em diferentes moinhos. Adaptada das referências 30 e 31.

O choque entre a amostra e os componentes do moinho pode produzir o desgaste destes e, portanto, ser uma fonte de contaminação severa.[31] Assim, a moagem pode ser considerada como uma das etapas mais críticas da sequência analítica, principalmente para analitos presentes em baixas concentrações. Para excluir a possibilidade de abrasão ou reduzi-la ao mínimo, a dureza ou resistência abrasiva do material que compõe o moinho deve ser superior à da amostra. A Tabela 4.1 apresenta uma escala, proposta por Mohs,[32] que determina a dureza do material e os principais materiais disponíveis comercialmente para a fabricação dos componentes dos moinhos.

Em amostras heterogêneas como solos, sedimentos e rochas, é necessário considerar sempre o componente de maior dureza e/ou em maior proporção. Por

Tabela 4.1. Escala de Mohs e a classificação da dureza de materiais constituintes dos moinhos. Adaptada da referência 32.

Dureza	Mineral	Material dos moinhos
1	Talco	Plásticos
2	Gesso	
3	Calcita	
4	Fluorita	
5	Apatita	Aço endurecido, aço inox, Aço de manganês
6	Feldspato	Ágata, titânio, porcelana dura, vidro
7	Quartzo	Óxido de Zircônio
8	Topázio	Nitreto de silício, carbeto de tungstênio
9	Corindon (rubi, safira, esmeralda oriental)	Alumina cerâmica
10	Diamante	

Nota: Esta escala foi criada pelo austríaco Friedrich Mohs. O valor de dureza 1 foi dado ao material menos duro (talco) e o valor 10 dado ao diamante que é a substância mais dura existente na natureza. Esta escala não corresponde à dureza absoluta de um material. O diamante, por exemplo, tem dureza absoluta 1500 vezes superior ao talco.

exemplo, o solo é constituido de diversas frações sendo, em geral, a fração predominante a areia (óxidos de silício), que tem dureza em torno de 7, mas pode possuir também menores frações de óxido de alumínio, que pode ter dureza 9 na escala de Mohs. Neste caso, se moinhos com componentes de carbeto de tungstênio ou alumina forem utilizados, haveria pouco efeito da areia, entretanto a dureza do óxido de alumínio pode causar a abrasão dos componentes, contaminando a amostra com os elementos constituintes do moinho. Neste sentido, conhecer a composição química dos materiais que entram em contato com a amostra durante o processo de moagem é essencial para tentar evitar a contaminação das mesmas. A Tabela 4.2 apresenta os componentes majoritários e minoritários dos principais materiais empregados nos moinhos.

Além da contaminação por elementos do moinho, as moagens em instrumentos mecânicos, com processos de pressão, fricção ou impacto, promovem o aquecimento. Esses moinhos devem ser evitados se houver risco de perdas de elementos voláteis ou de degradação de componentes da amostra. Moinhos que usam jatos de ar para promover o choque entre as partículas da própria amostra

Tabela 4.2. Composição elementar dos materiais constituintes dos moinhos. Adaptada da referência 32.

Material	Elementos majoritários	Elementos minoritários
Aço endurecido	Fe	Cr, Si, Mn, C
Aço inox	Fe, Cr	Ni, Mn, S, Si
Aço livre de Cr	Fe	C, Mn, Si, Mo
Carbeto de tungstênio	W, C, Co	Ta, Ti, Nb
Alumina cerâmica	Al	Si, Ca, Mg
Ágata	Si	Al, Na, Fe, K, Ca, Mg
Óxido de zircônio	Zr, Y	Mg, Hf
Nitreto de silício	Si	Y, Al, Fe, Ca
Titânio	Ti	Fe
Porcelana dura	Si, Al	Ca, Mg

reduzem significativamente a contaminação, uma vez que a amostra não entra em contato com as peças do moinho, além de propiciar menor aquecimento. Fajgelj & Zeisler[33] observaram que o moinho de jato de ar é o mais apropriado para moer amostras biológicas e ambientais. Os autores chegaram a essa conclusão depois de avaliarem as distribuições de tamanho das partículas de diversos materiais de referência. Os materiais moídos com esse tipo de moinho foram os que apresentaram as menores distribuições de tamanho das partículas, sendo os mais adequados para microanálises.

Em artigo de revisão sobre síntese de ligas por processos de moagem, Suryanarayana[34] apresentou os tipos de moinho mais frequentemente usados e as principais variáveis experimentais que afetam a moagem, tais como a configuração do moinho e recipiente de moagem, velocidade e tempo de moagem, massa de amostra, atmosfera e temperatura de moagem. A discussão envolve a síntese de ligas metálicas, porém muitos aspectos abordados são gerais e válidos para aplicações analíticas.

Na determinação de elementos em baixas concentrações, a maioria das técnicas analíticas requer que a amostra esteja na forma de uma solução.[35] Entre as vantagens da dissolução da amostra estão a facilidade do uso de soluções aquosas para calibração, facilidade para diluições e possibilidade de separações de constituintes com ou sem pré-concentração. A moagem das amostras é bastante impor-

tante em procedimentos de dissolução, conforme discutido no Capítulo 2. Alternativamente, é também viável a análise direta de sólidos e de suspensões, discutidas no Capítulo 5. Exceto nos casos de equipamentos com amostradores de ablação por *laser*, a introdução da amostra na forma sólida ainda requer um tratamento mínimo. Na amostragem direta de sólidos em atomizadores ou vaporizadores eletrotérmicos, assim como na amostragem de suspensões, esse tratamento pode consistir apenas em uma etapa de moagem. Contudo, devido à pequena massa de amostra utilizada nesses métodos (*e.g.* entre 10 e 500 μg), é fundamental que o material moído apresente distribuição homogênea de tamanho de partículas. Essa condição pode ser crítica, principalmente, na análise de suspensões em ICP OES,[36] que frequentemente requer tamanho de partículas menor que 10 μm. Por outro lado, a análise de suspensões usando-se atomizadores ou vaporizadores eletrotérmicos é mais tolerante ao tamanho de partículas. Nesse caso, usualmente recomendam-se partículas menores que 100 μm,[37-41] mas o uso de partículas de até 500 μm pode ser aceitável em algumas situações.[42,43] Infelizmente, muitos moinhos convencionais não produzem em poucos minutos partículas menores que 100 μm, principalmente para amostras de alta dureza ou com altos teores de fibras e gorduras.[44]

A distribuição do tamanho das partículas é um importante requisito na análise direta de amostras sólidas.[45] Esse parâmetro depende de fatores como a natureza do material e a densidade, além da massa da amostra selecionada para a moagem. O termo cominuição geralmente faz referência ao procedimento de moagem de amostras sólidas com a conversão das partículas grandes em pequenas. Quando a moagem é feita de forma apropriada, a homogeneidade na distribuição dos analitos nas amostras pode ser melhorada. No caso dos materiais vegetais, que são naturalmente heterogêneos, os diferentes teores dos analitos nas partes das folhas podem dificultar as análises quantitativas. Exemplos de tal variabilidade em folhas de plantas já foram discutidos por Kratochvil *et al*.[46]

De fato, a escolha do procedimento de moagem depende de alguns parâmetros:[1] (i) quantidade e número de amostras do material a ser homogeneizado; (ii) tamanho das partículas do material original; (iii) distribuição do tamanho de partículas desejada e (iv) propriedades físico-químicas da amostra a ser cominuída e do equipamento de moagem.

Alguns autores destacaram a necessidade da cominuição da amostra para alcançar partículas com diâmetros menores que 50 μm,[47] embora outros[33,48] tenham

recomendado tamanhos de partículas com diâmetros de aproximadamente 10 μm para minimizar as dificuldades encontradas quando apenas pequenas massas de amostra são utilizadas nas análises. De qualquer forma, os procedimentos para a cominuição devem ser eficientes para obter tamanhos de partículas apropriados, especialmente porque a massa de amostra analisada por algumas técnicas microanalíticas pode variar de 0,1 a 10 mg.[49]

Apesar da possibilidade de analisar massas diminutas de amostras ser uma vantagem das técnicas microanalíticas, essa característica é também um grande desafio, pois obter resultados precisos e exatos nessas condições não é uma tarefa simples. O uso de massas de amostra menores que 100 mg pode comprometer a homogeneidade e consequentemente a representatividade, já que os elementos presentes em baixas concentrações podem não estar homogeneamente distribuídos no material.[50] Quanto menor for a alíquota amostrada, maior é a tendência da massa efetivamente analisada se tornar cada vez mais heterogênea, pois a probabilidade estatística de encontrar a mesma concentração média do analito na fração tomada para análise torna-se cada vez menor. Por exemplo, no caso em que massas na faixa de 100 a 500 mg são utilizadas para digestão ou solubilização, a micro-homogeneidade na distribuição dos analitos não é um fator limitante.[48] Por outro lado, quando massas menores são tomadas para análise (*e.g.* 0,01 a 1 mg), a micro-homogeneidade torna-se um parâmetro crítico.

Na maioria dos manuais de equipamentos de moagem existe recomendações sobre a granulometria inicial das amostras. Neste sentido, a moagem prévia de algumas amostras, especialmente materiais de interesse agrícola, é feita em moinhos com facas contendo peneira de diferentes aberturas de malhas. Os moinhos com facas quebram materiais volumosos por corte e forças de cisalhamento. A amostra introduzida permanece na câmara do moinho até que atinja tamanhos de partículas adequados para passar por uma peneira previamente escolhida. Posterior à etapa de moagem grosseira das amostras, tanto moinhos criogênicos,[51-53] quanto moinhos com bolas,[54-56] têm sido utilizados para cominuição de diversos tipos de amostras.

Um moinho com bolas promove a sucessiva colisão de esferas com as amostras, reduzindo-as a partículas menores. Esses moinhos também podem ser usados para homogeneização de amostras. A moagem com bolas permite moer materiais de alta dureza e com alto teor de fibras. De acordo com o tempo de moagem, da composição do material que compõe o conjunto de moagem, do tamanho

do recipiente e das esferas, pode-se cominuir o material em partículas entre 0,1 e 100 μm.[45,57] Os moinhos com bolas são amplamente utilizados em indústrias e laboratórios para processamento de fármacos, minérios, fertilizantes, alimentos, metais, tintas, argamassas, materiais refratários, cerâmicas, óxidos, catalisadores, e diversos outros produtos.[58]

Pequenas partículas podem aumentar a força de coesão do material quando pastilhas da amostra moída e prensada são usadas, por exemplo, nas análises com amostragem por ablação com *laser*. Nestes casos, o tamanho das partículas geralmente afeta a porosidade das pastilhas e, consequentemente, a reprodutibilidade das medidas.[54,57] A distribuição do tamanho das partículas tem sido apontada como um dos fatores que afetam a qualidade dos resultados em diferentes técnicas analíticas.[1,33,59,60] Arroyo *et al.*[54] investigaram o efeito da cominuição de amostras de solos empregando moinho com bolas com movimento planetário para o preparo de pastilhas e determinação dos analitos por LA-ICP-MS. Foram obtidos tamanhos de partículas menores que 1 μm após 20 min de moagem em recipientes de carbeto de tungstênio. Segundo os autores, o procedimento de homogeneização melhorou a coesão das pastilhas sem a necessidade da adição de agentes aglutinantes. Além disso, foi observada amostragem representativa em microescala e reprodutibilidade apropriada nas medidas por LA-ICP-MS.

Outras aplicações empregando a moagem com bolas envolvem materiais tecnológicos, como nanotubos de carbono, e partículas nanométricas de óxidos, nitretos, hidretos e carbetos.[61,62] Neste caso, moinhos de alta energia são usados, utilizam-se tempos de moagem elevados e ímãs próximos ao moinho para obter maiores energias de impacto das colisões entre as esferas.

Gomes *et al.*[55] utilizaram a LA-ICP OES para a determinação de Ca, Mg, P, K, Fe, Mn, Zn e B em materiais vegetais. Amostras de folhas de soja, de citros e de cana-de-açúcar foram previamente moídas em moinho com facas e posteriormente cominuídas em moinho com bolas de alta velocidade, com tempo variando entre 5 e 120 min. Os tamanhos médios das partículas de folhas de citros e soja foram de aproximadamente 20 μm após 10 min de moagem, enquanto para as folhas de cana-de-açúcar foram necessários 40 min de moagem para obter partículas com tamanho médio de 21 μm. Os tempos de moagem foram definidos observando-se as massas de amostra removidas das pastilhas dos materiais vegetais pela ablação por *laser* e a máxima intensidade de emissão dos elementos.

Iyengar e Kasperek[63] desenvolveram a técnica de moagem criogênica para homogeneização de amostras biológicas. O princípio da técnica consiste no congelamento da amostra para aumentar a sua dureza e provocar falhas na sua estrutura. Dessa forma, o material se torna quebradiço, sendo necessária uma menor energia para sua cominuição. No procedimento original, a amostra foi colocada em um moinho com bolas, o recipiente da amostra era constituído de PTFE e as bolas constituídas de metal e revestidas com PTFE. O recipiente da amostra foi resfriado em nitrogênio líquido por alguns minutos e agitado por 1 min a 3000 ciclos por minuto. O procedimento foi aplicado para moagem de fígado bovino visando à determinação de Ag, Cl, Co, Fe, K, Mn, Na, P, Rb e Zn por análise por ativação neutrônica instrumental. Posteriormente, vários autores demonstraram a eficiência da moagem criogênica para a homogeneização de diversos materiais.

De Boer e Maessen[64] aplicaram a moagem criogênica para homogeneização de placenta humana. Os autores compararam a eficiência na redução do tamanho das partículas, utilizando nitrogênio líquido (-196 °C) ou gelo seco em acetona (-78 °C) para congelamento das amostras. Demonstrou-se que maior percentagem de partículas menores que 100 μm foi obtida quando o conjunto de moagem foi refrigerado com nitrogênio líquido. Por meio de experimentos com radioisótopos, os autores observaram melhores homogeneizações utilizando nitrogênio líquido e, além disso, concluíram que alíquotas de 10 mg poderiam ser utilizadas representativamente a partir de 10 g da amostra.

Zeisler *et al*.[65] investigaram a moagem criogênica para homogeneizar amostras de fígado bovino, gordura de porco e tecido muscular fibroso. Observou-se que um moinho de disco foi mais eficiente que o moinho de bolas para produzir partículas menores. Após 4 min de moagem, as amostras congeladas foram peneiradas em meio de nitrogênio líquido para prevenir a aglomeração das partículas. As amostras de gordura de porco apresentaram maior dificuldade de homogeneização, sendo que 10 a 15% do material moído apresentaram partículas maiores que 460 μm. Para as amostras de tecido muscular fibroso, após 8 min de homogeneização, observou-se que a maioria das partículas era inferior a 460 μm. Os autores atestaram a homogeneidade para 26 elementos em alíquotas de 250 mg, utilizando a técnica de análise por ativação neutrônica instrumental para os dois tipos de moinhos utilizados.

May e Kaiser[66] avaliaram o procedimento de moagem criogênica para homogeneização de amostras de peixes. No moinho utilizado, as amostras são cominuídas por impacto em um conjunto de moagem, constituído de um tubo de policarbonato e de peças magnéticas de aço inoxidável 440C, o qual foi imerso em nitrogênio líquido. Uma vez que as amostras entram em contato com as peças de aço inoxidável, investigou-se a possibilidade de contaminação de 30 elementos em amostras de alta dureza (quartzo) e amostras de tecido de peixe. Após 3 min de moagem os autores observaram contaminações de 1,5 μg g^{-1} Cr, 15 μg g^{-1} Fe, 0,1 μg g^{-1} Mo e 1,0 μg g^{-1} Ni. Comparativamente aos procedimentos frequentemente utilizados para homogeneização de materiais biológicos, a moagem criogênica produziu menores tamanhos de partículas (< 100 μm) com melhor homogeneidade. Mais recentemente, acessórios para evitar a contaminação das amostras foram disponibilizados comercialmente.

Mierzwa *et al.*[67] aplicaram a moagem criogênica no preparo de amostras visando à determinação de Ba, Cu, Fe, Pb e Zn em folhas de chá por GFAAS e ICP OES. As amostras foram moídas durante 20 min em um moinho com um acessório para resfriamento com nitrogênio líquido. Os autores verificaram que a refrigeração melhorou a eficiência da moagem e que o tamanho médio das partículas, examinado por microscopia eletrônica de varredura (SEM), foi inferior a 60 μm.

Engelsen e Wibetoe[68] determinaram Al, Cu, Li e Mn em sementes de pinheiro e materiais de referência certificados (CRMs) de plantas por GFAAS com amostragem de suspensões. A moagem criogênica foi utilizada para evitar problemas de aglomeração das partículas que ocorria durante a moagem das sementes em temperatura ambiente. Para a moagem em temperatura ambiente, a distribuição do tamanho das partículas foi dispersa até 170 μm, tendo sua maior fração até 100 μm. Para moagem criogênica, a distribuição do tamanho das partículas foi mais uniforme, com maioria das partículas menor que 50 μm.

Gouveia *et al.*[69] utilizaram a moagem criogênica para homogeneização de cereais matinais visando à determinação de Fe, Mn e Zn por FAAS após digestão assistida por micro-ondas. A moagem consistiu apenas de 1 etapa de pré-congelamento da amostra por 2 min e uma etapa de moagem por 2 min. As partículas apresentaram tamanho médio de aproximadamente 30 μm. Os autores também observaram menores coeficientes de variação na determinação dos analitos em amostras moídas criogenicamente em comparação com amostras moídas em moinhos de facas.

Kamogawa *et al.*[70] determinaram Cd, Cu e Pb em amostras de cabelo por GFAAS empregando análises de suspensões. As amostras foram moídas criogenicamente durante 13 min, obtendo-se distribuições de tamanhos homogêneas e 90% das partículas menores que 95 μm.

Santos Jr *et al.*[44] avaliaram a aplicação da moagem criogênica para amostras de alimentos com diferentes teores de fibras e gordura visando ao preparo de suspensões para a determinação de Cd e Pb por GFAAS. As amostras apresentaram distribuições homogêneas com partículas geralmente menores que 60 μm após 5 min de pré-congelamento e 2 min de moagem. Os autores demonstraram que a homogeneidade das amostras, após a moagem criogênica, possibilitou a determinação dos analitos em massas de 5 a 20 mg, preparando as suspensões diretamente nos copos do amostrador automático. Um aspecto relevante foi a possibilidade de moagem de amostras com alto teor de óleos. Para amostras de castanha do Pará, aplicando-se um período de pré-congelamento de 15 min e 3 ciclos de moagem de 2 min, observou-se a dispersão de partículas no óleo e a separação entre as partículas e o óleo após um período de decantação. Dessa forma, a moagem criogênica pode ser uma alternativa para os procedimentos convencionais de trituração e/ou maceração empregados na extração de pequenas massas de óleos vegetais para análise química, pois ocorre a liberação do óleo ou facilitam-se os procedimentos de extração por solvente, sem que ocorra a degradação de compostos termolábeis.

Gomes *et al.*[55] analisaram pastilhas de folhas de citros, de folhas de soja e de folhas de cana-de-açúcar por LIBS após moagem criogênica de 10 a 50 min. Respectivamente, 10, 20 e 30 min de moagem foram necessários para atingir a máxima intensidade de emissão para B, Mn, P, Mg, Cu, Zn, Fe, Ca e K em pastilhas de folhas de citros (tamanho médio: 20 μm), folhas de soja (tamanho médio: 15 μm) e folhas de cana-de-açúcar (tamanho médio: 18 μm). Nesse mesmo estudo, as amostras foram também processadas em moinho com bolas com movimento planetário, utilizando recipiente e esferas de ágata. Moagem por 20 min foi necessária para obter as máximas intensidades de emissão dos elementos nas pastilhas de folhas de citros (tamanho médio: 15 μm) e folhas de soja (tamanho médio: 20 μm). No entanto, para folhas de cana-de-açúcar, o dobro do tempo (60 min) foi necessário quando comparado à moagem criogênica para alcançar tamanhos de partículas similares (15 μm). Segundo os autores, os diferentes tempos de moagem necessários para cominuir as amostras podem estar relacionados às variações nos

teores de fibra, celulose e lignina das folhas das plantas. Os autores concluíram que tanto a moagem criogênica quanto a moagem em moinhos com bolas podem ser eficientes para a redução do tamanho das partículas para posterior determinação dos analitos por LIBS.

Outras aplicações da moagem criogênica foram relatadas na literatura visando à homogeneização de amostras biológicas,[71-76] à diminuição de perdas de componentes com alta volatilidade ou de fácil oxidação quando moídas em temperaturas ambiente (*e.g.* condimentos, fármacos, óleo e gorduras),[77-83] à produção de CRMs[84-88] e ao preparo de amostras para extração de DNA em ossos[89] e dentes humanos.[90,91] Particularmente para a produção de CRMs, a moagem criogênica é atrativa, pois possibilita a obtenção de materiais mais finos e homogêneos e, consequentemente, maior representatividade para alíquotas reduzidas das amostras.

Além da rapidez, uma das vantagens da moagem criogênica, dependendo do tipo de amostra a ser moída, está na produção de partículas com tamanhos geralmente menores que 150 μm. A Tabela 4.3 mostra alguns exemplos de materiais moídos criogenicamente.

Em estudo realizado com 24 amostras de folhas provenientes de diferentes espécies,[93] as quais foram moídas criogenicamente por 10 min, observou-se uma variação apreciável na distribuição do tamanho das partículas, entre 0,6 e 215 μm para folhas de café e entre 1,2 e 480 μm para folhas de cana-de-açúcar (Tabela 4.4). Esses resultados demonstram que a eficiência da cominuição criogênica é dependente das propriedades físicas e químicas da matriz vegetal como, por exemplo, os teores de fibras e lignina, conforme observado por Gomes *et al.*[55]

Krejčová *et al.*[94] concluíram que a moagem criogênica foi a única adequada para a obtenção de alíquotas homogêneas para análise de granola, cereais e sopas instantâneas, quando comparada com moagem em almofariz de ágata e moinho de bolas. Além destes, outros autores também demonstraram a utilidade da moagem criogênica no preparo de amostras.[95-98]

Apesar das vantagens apresentadas, um problema associado à moagem criogênica é o estresse mecânico sofrido pelas peças móveis do moinho sob baixas temperaturas. Esse estresse pode levar ao desgaste e, em alguns casos, ao cisalhamento do material empregado na construção do moinho. Uma alternativa atraente para esse problema foi implementada nos moinhos que utilizam a moagem por impacto com barras magnéticas (Figura 4.2).[99] Nesses moinhos, o conjunto de moagem é

Tabela 4.3. Tamanhos de partículas de amostras moídas criogenicamente.

Material	Massa (g)	Tempo* (min)	Tamanho (µm)	Ref.
Vegetais e tecido animal	2	2	< 60	44
Placenta humana	10	40	< 250	64
Fígado bovino e tecido muscular fibroso	150	4	< 460	65
Tecido de peixe	1 - 2	3	< 100	66
Sementes de pinheiro	-	10	< 50	68
Cereais matinais	1	2	30	69
Cabelo	1 - 2	8	< 95	70
Termoplásticos (pellets)	3	3	74 – 149	92
Escama de peixe	1,5	4	< 74	92
Pelo animal	0,5	2	< 74	92
Vértebra humana (7 mm)	2	4	< 74	92
Pele de rato (natural)	2	3	< 74	92
Nylon (3 mm)	2	4	74 – 149	92
Polietileno	1	2	< 74	92
Polipropileno	1,5	6	< 74 – 149	92
Borracha	0,5	4	149 – 297	92
Madeira	1,3	4	< 149	92
Dente humano	2	2	< 74	92
Dente humano	-	6	< 150	92

* Os valores apresentados referem-se apenas à etapa de moagem criogênica.

Tabela 4.4. Distribuição do tamanho das partículas de folhas moídas (2 g) por 10 min em moinho criogênico. Adaptada da referência 93.

Amostra	Intervalo (µm)	δ_{95} (µm)	Média (µm)	Distribuição
Cana	1,2 – 480	323	101	bimodal
Soja	0,9 – 390	172	49	unimodal
Citros	1,1-350	181	47,8	bimodal
Milho	1,0 – 430	187	52,8	unimodal
Café	0,6 – 215	94,5	24,1	unimodal
Eucalipto	0,6 – 260	137	36,7	bimodal
Manga	0,7 – 260	134	35,7	bimodal
Feijão*	1,1 – 430	236	59,4	bimodal
Banana	0,7 – 200	93,5	26,7	unimodal
Alface	1,4 – 530	260	108	bimodal
Braquiária	1,1 – 350	207	56,5	bimodal
Milheto*	1,1 – 390	235	62,5	bimodal
Uva	0,8 – 210	85,5	25,2	unimodal
Seringueira	0,9 – 350	206	55,6	bimodal
Tomate	0,8 – 240	98,9	28,6	unimodal

* planta inteira.

constituído de um tubo de policarbonato, uma barra magnética e duas tampas de aço inoxidável. A amostra é introduzida junto com a barra magnética no tubo de policarbonato, o qual é vedado nas extremidades com as tampas de aço. O conjunto de moagem é imerso em nitrogênio líquido durante toda a moagem, o que diminui a possibilidade de perda de componentes voláteis e/ou oxidáveis da amostra. Após o período de pré-congelamento, um campo magnético alternado é aplicado fazendo com que a barra magnética atinja as tampas do tubo em alta velocidade. A cominuição é promovida pelo impacto da barra magnética com as amostras e com as tampas do conjunto de moagem. Assim, apenas as barras magnéticas estão em movimento no moinho, sem o auxílio de braços ou pistões mecânicos, evitando-se o desgaste ou cisalhamento do material empregado, principalmente em juntas ou conexões. Para amostras de maior dureza, o tubo de policarbonato pode ser substituído por um tubo de aço inoxidável.

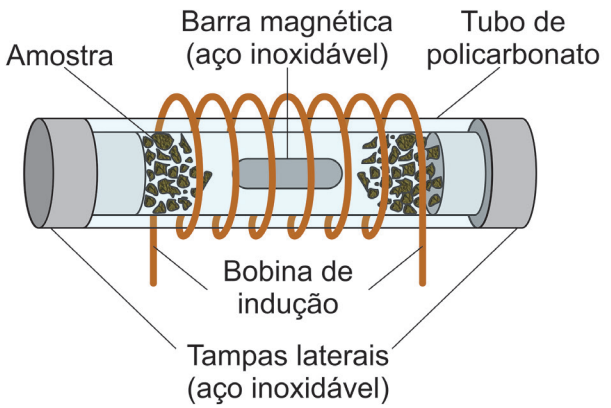

Figura 4.2. Conjunto de moagem utilizado nos moinhos de moagem por impacto com barras magnéticas. Adaptada da referência 99.

Entre as vantagens desses equipamentos destacam-se: (i) a moagem rápida de amostras de maior dureza (*e.g.* ossos, quartzo, dentes e polímeros) e de materiais de difícil homogeneização (*e.g.* fibras, borrachas, tecidos animais com alto teor de umidade e gordura) e (ii) a diminuição dos riscos de contaminação entre as amostras, uma vez que cada amostra é moída em um conjunto individual de moagem.

Uma alternativa ao procedimento descrito acima é o pré-congelamento da amostra em nitrogênio líquido apenas antes da moagem. Neste caso, alguns fabricantes recomendam a utilização de frascos de moagem com bolas constituídas

de PTFE, aço inoxidável ou carbeto de tungstênio. A principal desvantagem dessa estratégia é o gradual aquecimento da amostra durante a etapa de moagem, uma vez que a mesma não é mantida sob nitrogênio líquido.

As Figuras 4.3, 4.4 e 4.5 mostram as distribuições dos tamanhos de partículas para amostras de siri, mexilhão e dentes humanos, respectivamente, congeladas por 5 min e moídas por apenas 2 min em moinhos criogênicos que utilizam a moagem por impacto com barras magnéticas e imersão das amostras condicionadas em tubos de policarbonato em nitrogênio líquido.[99] As medidas do tamanho das partículas foram feitas em medidores de tamanho de partículas por difração de *laser*. Observa-se que 90% das partículas possuem diâmetro inferior a 64 µm para siri, 76 µm para mexilhão e 137 µm para dentes. A moagem destes materiais por maiores períodos não reduziu significativamente os tamanhos das partículas.

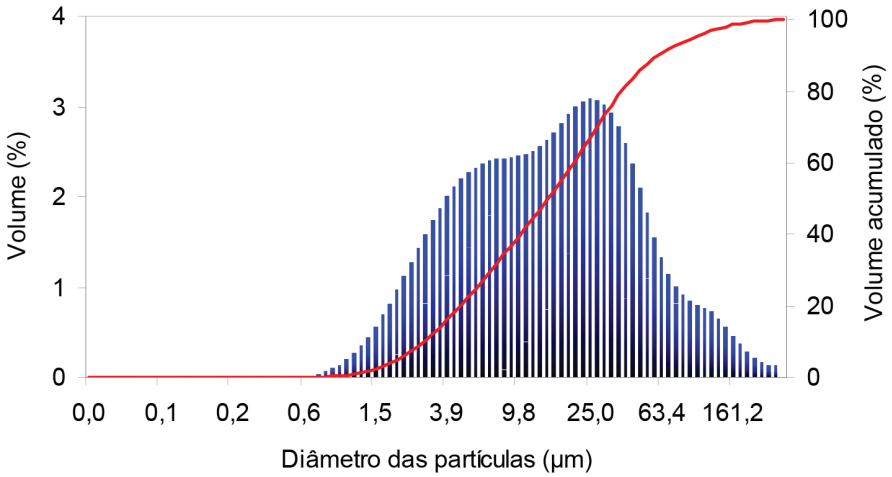

Figura 4.3. Distribuição do tamanho das partículas de carne de siri moída criogenicamente.[99]

Assim como observado por May e Kaiser,[66] se as amostras ficarem em contato com as peças metálicas do conjunto de moagem, há o risco de contaminação por Cr, Fe, Mo e Ni. Assim, moedores metálicos de impacto somente devem ser usados se a concentração endógena dos analitos for substancialmente maior que a contribuição da contaminação. Em outros trabalhos, Araújo *et al.*[76], Gouveia *et al.*[69] e Carrilho *et al.*[100] demonstraram a possibilidade de utilizar moinhos de impacto com barras magnéticas para moagem de diferentes amostras sem contaminação perceptível de ferro.

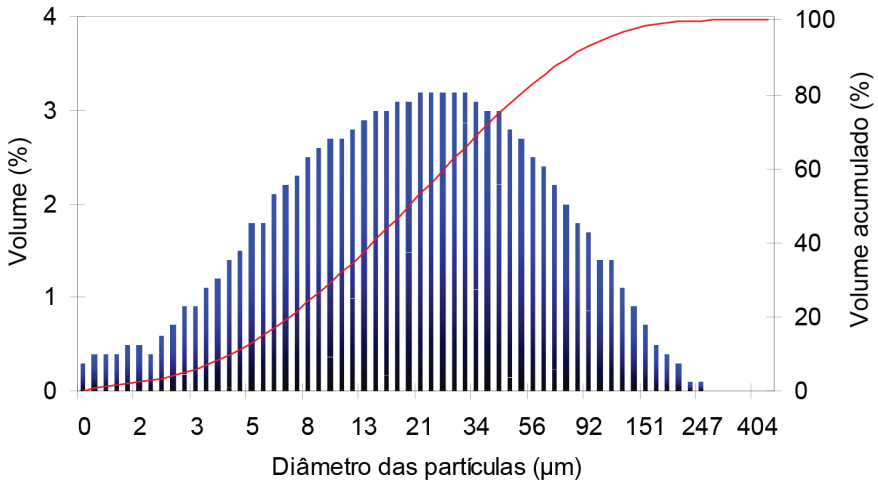

Figura 4.4. Distribuição do tamanho das partículas de mexilhão moído criogenicamente.[99]

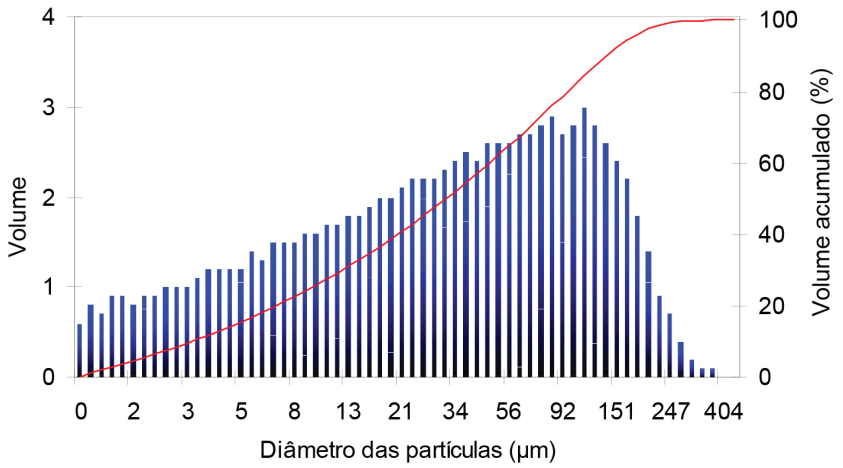

Figura 4.5. Distribuição do tamanho das partículas de dente moído criogenicamente.[99]

Cabe informar que a contaminação por Cr, Fe e Ni, causadas pelas barras magnéticas de aço inoxidável, pode ser evitada empregando-se conjuntos de moagem criogênica revestidos com policarbonato. Esta estratégia mostrou-se eficiente na moagem de amostras de farinha de trigo para o preparo de pastilhas visando à determinação de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn e Zn por LIBS e EDXRF.[101] Alternativamente, conjuntos de moagem criogênica feitos com ligas metálicas isentas de Cr também estão disponíveis comercialmente.

De acordo com a complexidade das amostras já investigadas e com os resultados obtidos, a moagem criogênica pode ser recomendada para diminuir o tempo gasto no preparo de amostras em procedimentos analíticos. No entanto, na maioria

dos procedimentos de moagem criogênica descritos na literatura, não se alcançaram distribuições homogêneas com tamanhos de partículas totalmente menores que 10 μm. Esse pré-requisito, como já mencionado, é fundamental para a introdução e o transporte de suspensões, assim como para atomização dos analitos em ICP OES. Dessa forma, apesar das vantagens descritas, a investigação de novos equipamentos com diferentes mecanismos de moagem ainda é necessária.

4.4. PENEIRAMENTO

O peneiramento das amostras *in natura* ou previamente moídas é um dos métodos mais usados para avaliação e classificação da distribuição do tamanho das partículas. Esse procedimento visa a uniformizar a distribuição do tamanho das partículas, tornando-as mais homogêneas. Em muitos casos, conhecendo-se a distribuição do tamanho das partículas, é possível inferir sobre a homogeneidade da amostra ou sobre a viabilidade do método de moagem escolhido. Em geral, quanto menor o tamanho das partículas, mais homogênea é a distribuição dos analitos na porção amostrada.[93] Esse aspecto se torna ainda mais crítico para os métodos microanalíticos, uma vez que a pequena massa das alíquotas amostradas (*e.g.* 0,001 - 10 mg) pode não representar a composição da amostra teste, o que leva a resultados imprecisos e inexatos.[47]

Idealmente, o peneiramento deve restringir o tamanho máximo das partículas ao diâmetro nominal dos poros da peneira. Contudo, partículas alongadas, como fibras, podem atravessar transversalmente os poros da peneira, contribuindo para o aumento do intervalo do tamanho das partículas. Além disso, os poros da peneira também podem apresentar dimensões irregulares, o que contribui para esse efeito.[93] A Tabela 4.5 mostra uma comparação entre tamanhos de partículas e classificação baseada em recomendações internacionais.

É importante destacar que a etapa de peneiramento pode constituir uma relevante fonte de erros sistemáticos e aleatórios. Precauções devem ser tomadas para evitar contaminação da amostra durante o procedimento, a qual pode ocorrer em função do (i) contato direto das amostras com constituintes da peneira (principalmente nos casos de peneiras de aço inoxidável ou de bronze), (ii) exposição do material durante o manuseio e (iii) por contaminação cruzada inerente ao uso

Tabela 4.5. Comparação entre tamanhos de partículas e classificação baseada em recomendações internacionais.

US std Mesh	Tyler Mesh	ASTM (μm)
30	28	595
50	48	297
70	65	210
100	100	149
140	150	105
200	200	74
230	250	64
325	325	44
400	400	37
550	550	21

de peneiras contaminadas, uma vez que a limpeza e descontaminação das peneiras com malhas mais diminutas (*i.e.* com poros < 100 μm) não é trivial. O uso de peneiras com o corpo e membrana de Teflon ou Nylon pode reduzir as possibilidades de contaminação, principalmente às relacionadas com Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn e Zn.[102]

A Figura 4.6 mostra um exemplo da distribuição do tamanho das partículas antes e depois do peneiramento. Observa-se que com o peneiramento é possível selecionar uma faixa de tamanho de partículas tornando distribuições bimodais em unimodais.[93] A seleção de porções amostradas com distribuição unimodal pode melhorar a repetibilidade dos resultados obtidos por técnicas microanalíticas.

No entanto, deve-se ressaltar que a etapa de peneiramento pode provocar efeitos de segregação ou fracionamento dos analitos em função do tamanho das partículas. O fracionamento está relacionado à forma como os elementos se encontram ligados às diferentes estruturas da matriz e também quando há diferenças na composição química das partículas de diferentes tamanhos. Este efeito pode resultar, por exemplo, em um enriquecimento dos analitos nas frações contendo partículas menores, as quais não serão representativas da amostra-teste.

No caso da determinação de metais em amostras de solos e sedimentos, recomenda-se que, após as etapas de secagem e desagregação das partículas maiores, as amostras sejam peneiradas através de telas com abertura de 2 mm antes de se aplicar os procedimentos de moagem.[103,104] O não cumprimento deste requisito pode

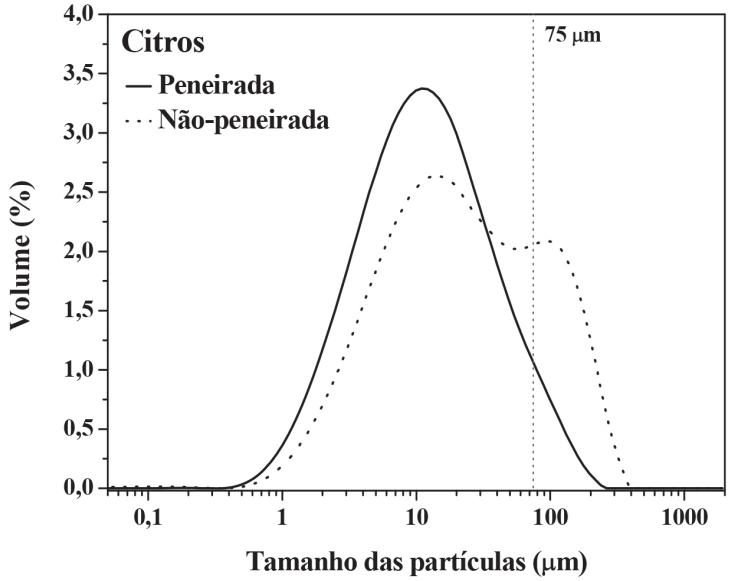

Figura 4.6. Distribuição do tamanho das partículas de folhas de citros moídas criogenicamente por 10 min e peneiradas em malha com abertura de 75 μm. Adaptada da referência 93.

proporcionar resultados subestimados, ou seja, pode resultar em concentrações dos analitos geralmente menores quando frações mais grosseiras são consideradas.[103] Geralmente, as partículas menores que 63 μm, que são compostas basicamente por argila e silte, contém concentrações maiores de alguns metais como Cd, Cu, Cr, Ni e Pb.[104,105]

Um exemplo deste fracionamento provocado pelo peneiramento foi reportado por Adiyiah *et al.*,[106] que observaram variações significativas nas concentrações de Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn em diferentes frações peneiradas: (i) > 0,5 mm, (ii) 45 - 500 μm, e (iii) < 45 μm. Verificou-se que frações contendo as partículas mais finas eram enriquecidas com esses elementos, sendo que as concentrações de Cr, Cu, Mn, Ni e Pb na fração < 45 μm foram, pelo menos, 2 vezes maiores que as observadas na fração entre 45 e 500 μm. No caso do Zn, esse aumento foi de 3 vezes.

Resultados semelhantes foram observados por McConnel e Honarvar[107] em amostras de sedimento marinho. No caso de *overbank sediments*, observou-se que as frações com partículas < 63 μm apresentaram concentrações maiores de Ag, Au, Br, Cd, Ce, Cu, Hf, Pb, Sm, Ta e U quando comparadas às frações com partículas entre 63 e 500 μm. No caso de *stream sediments*, cujas diferenças foram ainda mais acentuadas, as frações com partículas mais finas foram enriquecidas em

As, Au, Br, Ce, Cu, Hf, La, Ni, Sm, Ta, Tb, U e Yb. Por outro lado, as frações com partículas maiores (63 - 500 μm) apresentaram maiores concentrações de Ba, Cr, Mo e W.

Os efeitos de fracionamento no peneiramento de amostras vegetais são pouco conhecidos. Marques *et al.*[108] observaram fracionamentos de Na, Cl, K, Mn, Sr, Al, Sc, Co, Zn, Br e Rb inerentes ao peneiramento de amostra de líquen (CRM IAEA-336), com redução de até 2 vezes nas concentrações de Na, Cl, K, Mn e Sr nas frações com partículas < 20 μm. Segundo os autores, esses resultados se devem ao aumento na proporção de algas nas frações de partículas menores e à possível capacidade de concentração de certos elementos na parte fúngica dos líquens.

Em estudo com amostras de folhas moídas de cana-de-açúcar, citros, milho e café observou-se que o peneiramento através de malha com abertura de 75 μm não provocou alterações nas frações de massa de Si, P, S, K, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn.[93] No entanto, o peneiramento de folhas moídas de soja resultou no fracionamento de Fe, Mn, Ca e K. O fracionamento pode estar relacionado à distribuição dos elementos nas amostras em função de suas ligações com as diferentes estruturas vegetais, como a parede celular, nervuras e organelas.[93]

REFERÊNCIAS

1. MARKERT, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. **The Science of the Total Environment**, 176, 45-61, 1995.
2. RYABUKIN, Y. S. Activation analysis of hair as an indicator of contamination of man by environmental trace element pollutants. **IAEA report, IAEA/RL/50**, Viena, 1978. 135 p.
3. LEROY, R. F. Effect of washing on trace element content of human hair. **Journal of Orthomolecular Medicine**, 1, 120-125, 1986.
4. ASSARIAN, G. S.; OBERLEAS, D. Effect of washing procedures on trace element content of hair. **Clinical Chemistry**, 23, 1771-1772, 1977.
5. ATSDR, Summary Report - Hair analysis panel discussion: exploring the state of the Science. Atlanta, GA, EUA: **The Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, 2001. 199 p.
6. DESTA, K. G. **Washing plant tissue samples for mineral nutrient analysis.** Prosser: Washington State University, 2014. 4 p.

7. CALEY, E. R. **Analysis of ancient metals**. Londres: Pergamon Press, 1964. 188 p.

8. BECK, L.; BOSONNET, S.; RÉVEILLON, S.; ELIOT, D.; PILON, F. Silver surface enrichment of silver–copper alloys: a limitation for the analysis of ancient silver coins by surface techniques. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B**, 226, 153-162, 2004.

9. MORENO-SUÁREZ, A. I.; AGER, F. J.; SCRIVANO, S.; ORTEGA-FELIU, I.; GÓMEZ-TUBÍO, B.; RESPALDIZA, M. A. First attempt to obtain the bulk composition of ancient silver–copper coins by using XRF and GRT. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B**, 358, 93-97, 2015.

10. MORENO-SUÁREZ, A. I.; AGER, F. J.; RODRÍQUEZ-SEGOVIA, C.; GÓMEZ-MORÓN, A.; CHAVES, F.; SCRIVANO, S.; GÓMEZ-TUBÍO, B.; PLIEGO, R.; RESPALDIZA, M. A. Feasibility of different cleaning methods for silver-copper alloys by X-ray fluorescence: Application to ancient Greek silver coins. **Spectrochimica Acta Part B**, 116, 85-91, 2016.

11. BILMES, G. M.; FREISZTAV, C.; SCHINCA, D.; ORSETTI, A. Cleaning and characterization of objects of cultural value by laser ablation. **SPIE conference**. Bellingham, WA, EUA. 167-173, 2005.

12. LI, Q.; MCARTHUR, J. M.; DOYLE, P.; JANSSEN, N.; LENG, M. J.; MÜLLER, W.; REBOULET, S. Evaluating Mg/Ca in belemnite calcite as a palaeo-proxy. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, 388, 98-108, 2013.

13. AXELSSON, M. D.; RODUSHKIN, I.; BAXTER, D. C.; INGRI, J.; ÖHLANDER, B. High spatial resolution analysis of ferromanganese concretions by LA-ICP-MS. **Geochemical Transactions**, 3, 40-47, 2002.

14. SMITH, K.; TREJOS, T.; WATLING, R. J.; ALMIRALL, J. R. A guide for the quantitative elemental analysis of glass using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Atomic Spectroscopy**, 27, 69-75, 2006.

15. KABIR, A.; HOLNESS, H.; FURTON, K. G.; ALMIRALL, J. R. Recent advances in micro-sample preparation with forensic applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 45, 264-279, 2013.

16. RODRIGUEZ-CELIS, E. M.; GORNUSHKIN, I. B.; HEITMANN, U. M.; ALMIRALL, J. R.; SMITH, B. W.; WINEFORDNER, J. D.; OMENETTO, N. Laser induced breakdown spectroscopy as a tool for discrimination of glass for forensic applications. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 391, 1961-1968, 2008.

17. TREJOS. T.; KOONS, R.; WEIS, P.; BECKER, S.; BERMAN, T.; DALPE, C.; DUECKING, M.; BUSCAGLIA, J.; ECKERT-LUMSDON, T.; ERNST, T. ET AL. Forensic analysis of glass by μ-XRF, SN-ICP-MS, LA-ICP-MS and LA-ICP-OES: evaluation of the performance of different criteria for comparing elemental composition. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 28,1270-1282, 2013.

18. TREJOS, T.; ALMIRALL, J. R. Effect of fractionation on the forensic elemental analysis of glass using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, 76, 1236-1242, 2004.

19. DODDS, A. J.; POLLOCK, E. M. C.; LAND, D. P. Forensics Glass Analysis by LA-ICP-MS: Assessing the Feasibility of Correlating Windshield Composition and Supplier. **Research report submitted to the U.S. Department of Justice**. 2010. 125 p.

20. MOTTRAM, D. S.; PARDO, J. M.; NIRANJAN, K. The relation between sublimation rate and volatile retention during the freeze-drying of coffee. In: Welti-Chanes, J.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Aguilera, J. M. (Eds.). **Engineering and Food for the 21st Century**, Boca Raton: CRC Press. 2002. p. 253-268.

21. LUQUE DE CASTRO, M. D.; LUQUE GARCÍA, J. L.; **Acceleration and automation of solid sample treatment**. Amsterdam: Elsevier. 2002. 556 p.

22. NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos.** São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, 2005. 294 p.

23. SMITH, M. C. The feasibility of microwave ovens for drying plant samples. **Journal of Range Management**, 36, 676-677, 1983.

24. MARUR, C. J.; SODEK, L. Microwave drying of plant material for biochemical analysis. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 7, 111-114, 1995.

25. TANNER, P. A.; LEONG, L. S. Microwave vacuum drying of marine sediment: determination of moisture content, metals and total carbon. **Analytica Chimica Acta**, 342, 247-252, 1997.

26. SHARMA, G. P.; VERMA, R. C.; PATHARE, P. B. Thin-layer infrared radiation drying of onion slices. **Journal of Food Engineering**, 67, 361-366, 2005.

27. TOĞRUL, H. Simple modeling of infrared drying of fresh apple slices. **Journal of Food Engineering**, 71, 311-323, 2005.

28. RIADH, M. H.; AHMAD, S. A. B.; MARHABAN, M. H.; SOH, A. C. Infrared Heating in Food Drying: An Overview. **Drying Technology**, 33, 322-335, 2015.

29. MUJUMDAR, A. S. **Handbook of industrial drying**. Boca Raton: CRC Press. 2007, 1312 p.

30. RETSCH GMBH HAAN. **The art of milling**, **An expert guide to neutral-to-analysis size reduction in the laboratory**, Retsch, 2008, 55 p.

31. AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**, 2ª Ed., Porto Alegre-RS, Artmed, 2005, 677 p.

32. KURFURST, U. **Solid sample analysis**, Berlin: Springer-Verlag, 1998. 423 p.

33. FAJGELJ, A.; ZEISLER, R. Particle size determination of some IAEA and NIST environmental and biological reference materials. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 360, 442-445, 1998.

34. SURYANARAYANA, C. Mechanical alloying and milling. **Progress in Materials Science**, 46, 1-184, 2001.

35. NÓBREGA, J. A.; COSTA, L. M.; SANTOS, D. M. Preparo de amostras usando forno de microondas com radiação focalizada. **Analytica**, 1, 32-37, 2002.

36. EBDON, L.; FOULKES, M.; SUTTON, K. Slurry nebulization in plasmas. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 12, 213-229, 1997.

37. CABRERA, C.; LORENZO, M. L.; LOPEZ, M. C. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of cadmium, copper, iron, lead, and selenium in fruit slurry: Analytical application to nutritional and toxicological quality control. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 78, 1061-1067, 1995.

38. JANUZZI, G. S. B.; KRUG, F. J.; ARRUDA, M. A. Z. Application of the slurry technique to the determination of selenium in fish samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 12, 375-378, 1997.

39. MIERZWA, J.; SUN, Y. C.; CHUNG, Y.T.; YANG, M. H. Comparative determination of Ba, Cu, Fe, Pb and Zn in tea leaves by slurry sampling electrothermal atomic absorption and liquid sampling inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Talanta**, 47, 1263-1270, 1998.

40. LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; FERREIRA, A. T.; BARBOSA JR, F. Tungsten-rhodium permanent chemical modifier for cadmium determination in fish slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 14, 269-274, 1999.

41. ENGELSEN, C.; WIBETOE, G. Determination of Al, Cu, Li and Mn in spruce seeds and plant reference materials by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 366, 494-503, 2000.

42. MILLER-IHLI, N. J. Slurry sample preparation for simultaneous multi-element graphite--furnace atomic-absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 3, 73-81, 1988.

43. MILLER-IHLI, N. J. Slurry sampling for graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 337, 271-274, 1990.

44. SANTOS, D.; BARBOSA, F.; TOMAZELLI, A. C.; KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; ARRUDA, M. A. Z. Determination of Cd and Pb in food slurries by GFAAS using cryogenic grinding for sample preparation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 373, 183-189, 2002.

45. NOMURA, C. S.; DA SILVA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova**, 31, 104-113, 2008.

46. KRATOCHVIL, B.; WALLACE, D.; TAYLOR, J. K. Sampling for chemical analysis. **Analytical Chemistry**, 56, 113R-129R, 1984.

47. ROSSBACH, M.; ZEILLER, E. Assessment of element-specific homogeneity in reference materials using microanalytical techniques. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 377, 334-339, 2003.

48. ZEISLER, R. Reference materials for small-sample analysis. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 360, 376-379, 1998.

49. STOEPPLER, M.; WOLF, W. R.; JENKS, P. J. **Reference Materials for Chemical Analysis: Certification, Availability and Proper Usage**. Weinheim: Wiley-VCH, 2001. 322 p.

50. PAUWELS, J.; HOFMANN, C.; VANDECASTEELE, C. On the usefulness of SS-ZAAS for the microhomogeneity control of CRM's. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 348, 418-421, 1994.

51. ENGELSEN, C.; WIBETOE, G. Determination of Al, Cu, Li and Mn in spruce seeds and plant reference materials by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 366, 494-503, 2000.

52. KOGLIN, D.; BACKHAUS, F.; SCHLADOT, J. D. Particle size distribution in ground biological samples. **Chemosphere**, 34, 2041-2047, 1997.

53. SANTOS, D.; BARBOSA, F.; DE SOUZA, S. S.; KRUG, F. J. Cryogenic sample grinding for copper, lead and manganese determination in human teeth by slurry sampling GFAAS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 18, 939-945, 2003.

54. ARROYO, L.; TREJOS, T.; GARDINALI, P. R.; ALMIRALL, J. R. Optimization and validation of a Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry method for the routine analysis of soils and sediments. **Spectrochimica Acta Part B**, 64, 16-25, 2009.

55. GOMES, M. S.; SCHENK, E. R.; SANTOS JR, D.; KRUG, F. J.; ALMIRALL, J. R. Laser ablation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for analysis of pellets of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, 94-95, 27-33, 2014.

56. GOMES M, S.; SANTOS JR, D.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; LEME, F. O.; KRUG, F. J. Evaluation of grinding methods for pellets preparation aiming at the analysis of plant materials by laser induced breakdown spectrometry. **Talanta**, 85, 1744-1750, 2011.

57. CARVALHO, G. G. A. **Efeito da fluência na análise de pastilhas de materiais vegetais por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser.** 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

58. PAULA, L. F.; ALVES, A. C.; ALVES, H. C. S.; RIBEIRO, E. A.; MADURRO, A. G. B.; MADURROI, J. M. Diretrizes para a construção de um moinho de bolas para a moagem de sólidos em laboratórios. **Química Nova**, 37, 736-739, 2014.

59. SANTOS JR, D.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; GOMES, M. S.; SOUZA, P. F.; LEME, F. O.; SANTOS, L. G. C.; KRUG, F. J. Laser-induced breakdown spectroscopy for analysis of plant materials: A review. **Spectrochimica Acta Part B**, 71-72, 3-13, 2012.

60. LIMBECK, A.; GALLER, P.; BONTA, M.; BAUER, G.; NISCHKAUER, W.; VANHAECKE, F. Recent advances in quantitative LA-ICP-MS analysis: challenges and solutions in the life sciences and environmental chemistry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 407, 6593-6617, 2015.

61. LIMING, D. (Ed.). **Carbon Nanotechnology - Recent Developments in Chemistry, Physics, Materials Science and Device Applications**. Amsterdam: Elsevier Science, 2006, 750 p.

62. SONI, P. R. (Ed.). **Mechanical Alloying: Fundamentals and Applications.** Cambridge: Cambridge International Science Publishing, 2001, 164 p.

63. IYENGAR, G. V.; KASPEREK, K. Application of brittle-fracture technique (bft) to homogenise biological samples and some observations regarding distribution behavior of trace-elements at different concentration levels in a biological matrix. **Journal of Radioanalytical Chemistry**, 39, 301-316, 1977.

64. DE BOER J. L. M.; MAESSEN, F. J. M. J. Optimum experimental conditions of the brittle fracture technique for homogenisation of biological materials. **Analytica Chimica Acta**, 117, 371-375, 1980.

65. ZEISLER, R.; LANGLAND, J. K.; HARRISON, S. H. Cryogenic homogenization of biological tissues. **Analytical Chemistry**, 55, 2431-2434, 1983.

66. MAY, T. W.; KAISER, M. L. Evaluation of cryogenic impact grinding technique for powdering whole fish for metal determinations. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 67, 589-593, 1984.

67. MIERZWA, J.; SUN, Y. C.; CHUNG, Y.T.; YANG, M. H. Comparative determination of Ba, Cu, Fe, Pb and Zn in tea leaves by slurry sampling electrothermal atomic absorption and liquid sampling inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Talanta**, 47, 1263-1270, 1998.

68. ENGELSEN, C.; WIBETOE, G. Determination of Al, Cu, Li and Mn in spruce seeds and plant reference materials by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 366, 494-503, 2000.

69. GOUVEIA, S. T.; LOPES, G. S.; FATIBELLO-FILHO, O.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Homogenization of breakfast cereals using cryogenic grinding. **Journal of Food Engineering**, 51, 59-63, 2002.

70. KAMOGAWA, M. Y.; NOGUEIRA A. R. A.; COSTA, L. M.; GARCIA, E. E.; NÓBREGA, J. A. A new strategy for preparation of hair slurries using cryogenic grinding and water-soluble tertiary-amines medium. **Spectrochimica Acta Part B**, 56, 1973-1980, 2001.

71. KOGLIN, D.; BACKHAUS, F.; SCHLADOT, J. D. Particle size distribution in ground biological samples. **Chemosphere**, 4, 2041-2047, 1997.

72. KRAMER, G. N.; PAUWELS. J. The development of cryo-grinding equipment for the transformation of large quantities of biological reference materials with low heavy-metal contents. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 338, 390-393, 1990.

73. LUGOWSKI, S. T.; SMITH, D. C.; MCHUGH, A. D.; VAN LONN, J. C. Release of metal-ions from dental implant materials in vivo – determination of Al, Co, Cr, Mo, Ni, V and Ti in organ tissue. **Journal of Biomedical Materials Research**, 25, 1443-1458, 1991.

74. LUGOWSKI, S.; SMITH, D.; BZDEGA, J. The determination of contamination of the human body with corrosion products of metallic and silicone surgical implants. **Chemia Analityczna**, 43, 1011-1019, 1998.

75. ROGERO, S. O.; SAIKI, M.; SALDIVA, P. H. N.; DALIBERTO, M. L. Determination of trace-elements in human lung samples. **Biological Trace Element Research**, 4, 489-496, 1994.

76. ARAUJO, G. C. L.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Single vessel procedure for acid-vapour partial digestion in a focused microwave: Fe and Co determination in biological samples by ETAAS. **Analyst**, 125, 1861-1864, 2000.

77. SHIMO, L.; SHUANGYAN, G.; ZHONGPING, H.; QUN, W.; HAOPING, Z.; HUAIYU, P. Cryogenic grinding technology for traditional Chinese herbal medicine. **Cryogenics**, 31, 136-137, 1991.

78. SINGH, K. K.; GOSWAMI, T. K. Cryogenic grinding of cloves. **Journal of Food Processing and Preservation**, 24, 57-71, 2000.

79. SINGH, K. K.; GOSWAMI, T. K. Studies on cryogenic grinding of cumin seed. **Journal of Food Process Engineering**, 22, 175-190, 1999.

80. SINGH, K. K.; GOSWAMI, T. K. Design of a cryogenic grinding system for spices. **Journal of Food Engineering**, 39, 359-368, 1999.

81. PESEK, C. A.; WILSON, L. A.; HAMMOND, E. G. Spice quality - effect of cryogenic and ambient grinding on volatiles. **Journal of Food Science**, 50, 599-601, 1985.

82. PESEK, C. A,; WILSON, L. A. Spice quality - effect of cryogenic and ambient grinding on color. **Journal of Food Science**, 51, 1386-1386, 1986.

83. MURTHY C. T.; KRISHNAMURTHY, N.; RAMESH, T.; RAO, P. N. S. Effect of grinding methods on the retention of black pepper volatiles. **Journal of Food Science and Technology**, 33, 299-301, 1996.

84. STONE, S. F.; BACKHAUS, F. W.; BYRNE, A. R.; GANGADHARAN, S.; HORVAT, M.; KRATZER, K.; PARR, R. M.; SCHLADOT, J. D.; ZEISLER, R. Production of hair intercomparison materials for use in population monitoring programs for mercury and methylmercury exposure. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 352, 184-187, 1995.

85. YOSHINAGA, J.; MORITA, M.; OKAMOTO, K. New human hair certified reference material for methylmercury and trace elements. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 357, 279-283, 1997.

86. OKAMOTO, K.; YOSHINAGA, J.; MORITA, M. Biological and environmental reference materials from the national institute for environmental studies (Japan). **Mikrochimica Acta**, 123, 15-21, 1996.

87. KRAMER, G. N.; MUNTAU, H.; MAIER, E.; PAUWELS, J. The production of powdered candidate biological and environmental reference materials in the laboratories of the Joint Research Centre. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 360, 299-303, 1998.

88. BACKHAUS, F.; BAGSCHIK, U.; BUROW, M.; BYRNE, A. R.; FRONING, M.; MOHL, C.; OSTAPCZUK, P.; ROSSBACH, M.; SCHLADOT, J. D.; STOEPPLER, M.; WAIDMANN, E.; ZEISLER, R. Two spruce shoot candidate reference materials from the german-environmental-specimen-bank. **Science of the Total Environment**, 139-140, 447-458, 1993.

89. HOFF-OLSEN, P.; MEVÅG, B.; STAALSTRØM, E.; HOVDE, B.; EGELAND, T.; OLAISEN, B. Extraction of DNA from decomposed human tissue - An evaluation of five extraction methods for short tandem repeat typing. **Forensic Science International**, 105, 171-183, 1999.

90. SWEET, D.; HILDEBRAND, D.; PHILLIPS, D. Identification of a skeleton using DNA from teeth and a PAP smear. **Journal of Forensic Sciences**, 44, 630-633, 1999.

91. SWEET, D.; HILDEBRAND, D. Recovery of DNA from human teeth by cryogenic grinding. **Journal of Forensic Sciences**, 43, 1199-1202, 1998.

92. SPEX CERTIPREP, **Handbook of sample preparation & handling**, Metuchen, 1997, 122 p.

93. CARVALHO, G. G. A. **Análise de pastilhas de plantas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser em regimes temporais de nano- e de femtossegundos**. 2015. 156 f. Tese (Doutorado em Ciências), Programa de Pós-Graduação em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

94. KREJČOVÁ, A.; POUZAR, M.; ČERNOHORSKÝ, T.; PEŠKOVÁ, K. The cryogenic grinding as the important homogenization step in analysis of inconsistent food samples. **Food Chemistry**, 109, 848-854, 2008.

95. CUNNINGHAM, W. C. Study of cryogenic procedures for preparation of food for element analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, 35-44, 2008.

96. ALEIXO, P. C.; SANTOS JR, D.; TOMAZELLI, A. C.; RUFINI, I. A.; BERNDT, H.; KRUG, F. J. Cadmium and lead determination in foods by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation. **Analytica Chimica Acta**, 512, 329-337, 2004.

97. FERNANDES, K. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; NETO, J. A. G.; NÓBREGA, J. A. Determination of vanadium in human hair slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 71, 1118-1123, 2007.

98. FERREIRA, H. S.; SANTOS, W. N. L.; FIÚZA, R. P.; NÓBREGA, J. A.; FERREIRA, S. L. C. Determination of zinc and copper in human hair by slurry sampling employing sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, 87, 128-131, 2007.

99. SANTOS, D.; TOMAZELLI, A. C.; KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A. Moagem criogênica para o preparo de amostras em técnicas analíticas. **Analytica**, 3, 40-44, 2003.

100. CARRILHO, E. N. V. M.; GONZALEZ, M. H.; NOGUEIRA, A. R. A.; CRUZ, G. M. Microwave-assisted acid decomposition of animal- and plant-derived samples for element analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 4164-4168, 2002.

101. PERUCHI, L. C.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; GUERRA, M. B. B.; ALMEIDA, E.; RUFINI, I. O.; SANTOS JR, D.; KRUG, F. J. Determination of inorganic nutrients in wheat flour by laser-induced breakdown spectroscopy and energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 100, 129-136, 2014.

102. THOMPSON, G.; BANKSTON, D. C. Sample contamination from grinding and sieving determined by emission spectrometry. **Applied Spectroscopy**, 24, 210-219, 1970.

103. RUBIO, R.; VIDAL, M. Quality assurance of sampling and sample pretreatment for trace metal determination in soils. In: QUEVAUVILLER, P. (Ed.). **Quality Assurance in Environmental Monitoring**: **Sampling and Sample Pretreatment**, Weinheim, Alemanha: Wiley-VCH. 1995. p. 157-178.

104. SAHUQUILLO, A.; RAURET, G. Sequential extraction. In: MESTER, Z.; STURGEON, R. E. (Eds.). **Sample preparation for trace element analysis**, Amsterdam, Holanda: Elsevier Science. 2003. p. 1233-1256.

105. STAMOULIS, S.; GIBBS, R. J.; MENON, M. G. Geochemical phases of metals in Hudson River estuary sediments. **Environment International**, 22, 185-194, 1996.

106. ADIYIAH, J.; ACHEAMPONG, M. A.; ANSA, E. D. O.; KELDERMAN, P. Grain-size analysis and heavy metals distribution in sediment fractions of Lake Markermeer in the Netherlands. **International Journal of Environmental Science and Toxicology Research**, 2, 160-167, 2014.

107. MCCONNEL, J.; HONARVAR, P. **Selective sieve fractions and sample preparations to enhance overbank- and stream-sediments surveys**. Current Research, Newfoundland Department of Mines and Energy, Geological Survey Branch, Report 91-1, 289-299, 1991.

108. MARQUES, A. P.; FREITAS, M. C.; WOLTERBEEK, H. T.; VERBURG, T. G.; DE GOEIJ, J. J. M. Grain-size effects on PIXE and INAA analysis of IAEA-336 lichen reference material. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, 255, 380-394, 2007.

Capítulo 5

ANÁLISE DIRETA DE SÓLIDOS E SUSPENSÕES

Cassiana Seimi Nomura
Dário Santos Junior
Lidiane Cristina Nunes
Marcelo Braga Bueno Guerra
Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho
Pedro Vitoriano Oliveira
Francisco José Krug

5.1. INTRODUÇÃO

Entre as diversas amostras de diferentes naturezas, cujo interesse é a determinação elementar, uma fração significativa encontra-se no estado sólido. A forma mais usual de analisar amostras sólidas tem sido a conversão do sólido em solução aquosa. Os métodos para a conversão de sólidos em soluções envolvem decomposição por via seca ou via úmida para matrizes orgânicas e inorgânicas, lixiviação para matrizes inorgânicas ou fusão para matrizes inorgânicas refratárias.[1] De um modo geral, esses métodos de tratamento de amostras são eficientes e muito empregados, mas consomem tempo, podendo variar de 5 min a 48 h ou mais, dependendo da complexidade da matriz e do tipo de instrumentação analítica empregada. Além disso, sempre há maior risco de ocorrência de erros sistemáticos por contaminações ou perdas por volatilização de espécies do analito, com prejuízo para a precisão e a exatidão dos resultados finais. Nos casos em que os analitos estão em níveis de traços e ultratraços nas amostras, os desafios podem ser ainda maiores e os erros aleatórios e sistemáticos também. Nesse contexto, a possibilidade de se obter informações sobre a composição elementar diretamente, sem que as amostras sólidas sofram nenhum ou o mínimo tratamento prévio, torna-se atraente.[2]

A análise direta de sólidos é o termo aplicado a essa modalidade de análise química que, com a evolução e o surgimento de novos instrumentos analíticos e o desenvolvimento de ferramentas estatísticas eficazes para o tratamento dos resultados, vem ganhando espaço na Química Analítica. A análise direta de sólidos apresenta importantes vantagens quando comparada aos métodos convencionais por via úmida:[3]

(i) o pré-tratamento das amostras pode ser mais simples e rápido;
(ii) os riscos de contaminações das amostras são minimizados por evitar o uso de reagentes para dissolução;
(iii) as perdas de analitos, por volatilização ou adsorção nas paredes dos frascos utilizados para o preparo das amostras, também são minimizadas;
(iv) menor periculosidade por não requerer reagentes tóxicos ou corrosivos;
(v) menor geração de resíduos;
(vi) maior detectabilidade dos analitos pelas técnicas analíticas escolhidas para análise, uma vez que as amostras não são diluídas;
(vii) possibilidade de se analisar pequena quantidade de amostra, possibilitando avaliar, inclusive, a micro-homogeneidade de materiais.

A análise de sólidos, seja na forma de suspensão ou da amostragem direta, pode ser executada utilizando-se diversos métodos analíticos. Os mais tradicionais, como a espectrometria de emissão óptica com fonte de arco ou centelha (SS OES) e a fluorescência de raios X (XRF), em sua forma tradicional, apresentam sensibilidade inadequada para determinações de elementos-traço, mas são usados, com sucesso, nas análises diretas de ligas metálicas e de outros materiais para determinações de elementos majoritários. A análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) classificada como método primário pelo CCQM (*Consultative Commitee for Amount of Substance – Metrology in Chemistry*), desde 03 de abril de 2008, permite a análise direta de sólidos e a determinação de elementos-traço.[4] No entanto, a INAA requer instalações especiais (*e.g.* reator com fluxo de nêutrons apropriado), instrumentação complexa e pessoal técnico altamente qualificado, limitando a sua implementação.

Nos últimos anos, muitos esforços foram feitos no sentido de viabilizar a análise direta de sólidos por outras técnicas espectroanalíticas, como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) ou com forno de grafite (GFAAS).[2] Essas técnicas são comumente utilizadas para análises de soluções, mas podem ser empregadas na análise direta de sólidos ou de suspensões. Para análises diretas de sólidos são necessários sistemas de introdução de amostras específicos, por exemplo, sistema de ablação com *laser* (LA) e vaporização eletrotérmica (ETV), que podem ser acoplados ao ICP OES e ICP-MS. No caso da espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, o desenvolvimento de amostradores especiais para sólidos (SS-GFAAS) foi fundamental para o bom desempenho do método. A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por *laser* (LIBS) vem se consolidando como uma das mais importantes para análise direta de sólidos.[5,6]

5.2. ANÁLISE DIRETA DE SÓLIDOS

5.2.1. Homogeneidade e massa de amostra

Considerando a quantidade de amostra a ser tomada para a análise direta de sólidos, os termos micro, submicro e ultra microanálise, que fazem uso de mas-

sas infereriores a 10, 1 e 0,1 mg, respectivamente, são os mais corretamente empregados.[7] Algumas dessas classificações e os intervalos de massas estão apresentados na Tabela 5.1.[8]

Tabela 5.1. Classificação de métodos analíticos com relação à massa de amostra empregada.

Nome	Massa de amostra (g)
Macroanálise	> 0,1
Mesoanálise (semimicroanálise)	0,1 – 0,01
Microanálise	10^{-2} – 10^{-3}
Submicroanálise	10^{-3} – 10^{-4}
Ultramicroanálise	< 10^{-4}

Na Tabela 5.2 estão listadas as principais técnicas para a análise direta de sólidos e as respectivas massas de amostra normalmente tomadas para análise.

Apesar das diversas vantagens associadas à análise direta de sólidos, existem algumas dificuldades que ainda precisam ser contornadas. As diminutas massas de amostras tomadas para análise, associadas à falta de homogeneidade na distribuição dos analitos, podem produzir resultados com elevados coeficientes de variação (> 10%). Nessa situação, é importante que a massa mínima tomada para análise represente a amostra como um todo, sem prejuízos para a precisão e exatidão dos resultados.[9]

Apesar da determinação de analitos em massas de amostras tão pequenas ser uma das vantagens associadas às técnicas de análise direta de sólidos, essa característica se torna um grande desafio, pois obter resultados precisos e exatos nessas condições não é tarefa trivial. Em geral, massas muito pequenas (< 100 mg) tendem a comprometer a representatividade, uma vez que os elementos-traço podem não estar homogeneamente distribuídos nos materiais.[10] A amostra porcionada tende a se tornar menos homogênea, pois a probabilidade de se encontrar a mesma concentração média de uma determinada espécie na porção é menor (Figura 5.1).

Quando um material se torna heterogêneo para pequenas massas de amostra, deve-se estabelecer a massa mínima representativa do todo para garantir a precisão e a exatidão dos resultados analíticos.[11] Por exemplo, no processo de certificação de um material de referência de alga, foi verificado que os coeficientes de variação

Tabela 5.2. Técnicas de análise direta de sólidos e as respectivas massas de amostra tomadas para análise. Tabela adaptada da referência 8.

Técnica de análise direta	Massa de amostra (mg)
Análise por ativação neutrônica instrumental (INAA)	1 – 10000
Fluorescência de raios X (XRF)	1 – 100
Espectrometria de emissão de raios X induzida por prótons (PIXE)	0,1 – 10
Espectrometria de emissão de raios gama induzida por prótons (PIGE)	0,1 – 10
Espectrometria de massas com fonte de arco e faísca (SSMS)	0,1 – 10
Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e amostragem direta de sólidos (SS-GFAAS)	0,03 – 10
Espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio induzido e sistema de atomização eletrotérmica (ETV-ICP OES)	0,03 – 10
Espectrometria de massas com plasma de argônio induzido e sistema de atomização eletrotérmica (ETV-ICP-MS)	0,03 – 10
Espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio induzido e sistema de ablação a *laser* (LA-ICP OES)	$(1 – 10)x10^{-6}$
Espectrometria de massas com plasma de argônio induzido e sistema de ablação a *laser* (LA-ICP-MS)	$(1 – 10)x10^{-6}$
Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por *laser* (LIBS)	$(0,1 – 300)\ x10^{-3}$
Micro-PIXE	$< 1x10^{-7}$

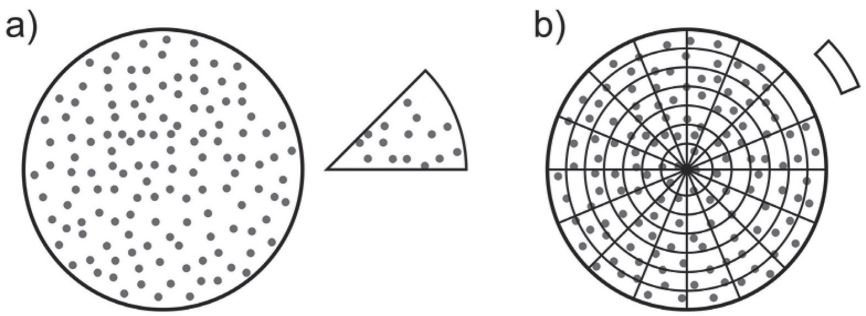

Figura 5.1. Diagrama representativo da homogeneidade de um analito (•) para diferentes subamostragens: (a) grande massa de amostra e (b) pequena massa de amostra. Reproduzida da referência 11 com permissão da Sociedade Brasileira de Química.

das medidas diminuíram de 50% para 0,5%, quando a massa de amostra analisada foi aumentada de 0,01 para 100 mg.[12]

A maioria dos materiais sólidos consiste em misturas heterogêneas, a exceção inclui algumas ligas metálicas e vidros. Materiais biológicos, geológicos e ambientais são inerentemente não homogêneos, sendo as rochas, os solos e os sedimentos, os materiais que apresentam composições mais heterogêneas.[2]

A homogeneidade é pré-requisito para a análise direta de amostras sólidas.[10] Esse parâmetro depende de fatores como o tipo de material, a massa de amostra a ser utilizada e a concentração do elemento de interesse. A heterogeneidade em pequenas massas de amostras é, geralmente, consequência da presença de partículas grandes chamadas "*nuggets*", nas quais podem estar contidas concentrações de elementos-traço muito maiores do que aquelas encontradas em toda a amostra.[13] Uma maneira de contornar esse tipo de problema é reduzir o tamanho das partículas das amostras, utilizando eficientes procedimentos de moagem.

A homogeneização é uma das etapas mais importantes e críticas do processo de produção de materiais de referência certificados (CRMs). O uso desses materiais consiste em uma das principais estratégias adotadas na avaliação da exatidão dos resultados obtidos a partir de um determinado método analítico. Desse modo, é importante que as características desses materiais, entre elas a homogeneidade, sejam bem definidas. A maioria dos CRMs disponíveis comercialmente apresenta homogeneidade garantida somente para massas elevadas de amostra, variando entre 100 e 500 mg.[10] Isso é um problema para as técnicas de microanálise, que utilizam massas de amostra, geralmente, inferiores a 10 mg (Tabela 5.2).

5.2.2. Avaliação da micro-homogeneidade

De acordo com o Guia ISO 35,[14] um material é perfeitamente homogêneo com relação a uma determinada característica, se na comparação de duas partes distintas do mesmo material, não houver diferenças significativas com relação a essa característica. Na prática, um material pode ser considerado homogêneo com relação a uma característica se a diferença entre o valor de uma parte com relação à outra parte não for estatisticamente diferente. O conceito básico de homogeneidade, portanto, engloba tanto a característica, como o parâmetro da medida (geralmente o desvio-padrão relativo), incluindo a massa da porção amostrada.

O grau de homogeneidade pode ser determinado fazendo-se medidas de uma propriedade (*e.g.* concentração de um elemento) em uma pequena unidade (*e.g.* massa de amostra), utilizando uma técnica de precisão relativamente elevada. Idealmente, a escolha da técnica deve considerar alguns requisitos:[10]

- Não deve requerer pré-tratamento da amostra para evitar perda de analitos e riscos de contaminações. Desse modo, incertezas provenientes de processos de digestão não influenciarão na variação das medidas;
- Deve possibilitar análises suficientemente precisas de pequenas massas da porção amostrada (idealmente menores que 1 mg);
- Deve apresentar, preferencialmente, uma elevada taxa de amostragem, para que um grande número de análises possa ser efetuado em um curto espaço de tempo.

Considerando essas características, a SS-GFAAS é uma técnica bastante conveniente, que vem sendo utilizada na avaliação da micro-homogeneidade de diversos tipos de materiais.

Informações quantitativas a respeito da micro-homogeneidade de amostras surgiram em 1973,[15] com a proposição da constante de amostragem (K_S) para estimar a imprecisão de resultados devido aos erros de amostragem (equação 1):

$$RSD = (K_S/m)^{1/2} \quad (1)$$

De acordo com essa equação, o valor de K_S pode ser estimado pelo RSD das medidas das porções amostradas de uma determinada massa *m*. Porém, um grande problema associado a essa aproximação é que erros aleatórios provenientes dos procedimentos analíticos não devem ser considerados. Nesse caso, as outras incertezas devem ser desconsideradas, conforme a equação 2, de modo a obter apenas a incerteza devido à heterogeneidade da amostra (S_H):

$$S_H^2 = RSD^2 - \Sigma(\text{outras incertezas})^2 \quad (2)$$

Enquanto K_S foi originalmente proposta para estimar a homogeneidade de massas relativamente altas de amostras geológicas, o conceito de constante de homogeneidade, H_e, foi introduzido visando pequenas massas de amostras (equação 3):[16]

$$H_e = S_H * m^{1/2} \quad (3)$$

A incerteza devido à heterogeneidade (S_H) de uma determinada massa de

amostra m (em mg) pode ser estimada diretamente a partir dos valores de RSD das medidas, considerando as incertezas do procedimento analítico. Como a massa m empregada nessa avaliação é tipicamente 1 mg, H_e representa a imprecisão devido à amostragem para uma unidade de massa (1 mg). Quando o fator de homogeneidade é menor do que 10 ($H_e < 10$), o material pode ser considerado suficientemente homogêneo.

Aplicando a equação 3, foi possível investigar a micro-homogeneidade de materiais de referência de algas, previamente mencionados.[12] Os materiais foram considerados homogêneos para As, Cd, Co, K e Zn e não homogêneos para Na, Cr, Fe e Br. Ainda nesse estudo, foi constatado que, enquanto H_e representava a incerteza devido à heterogeneidade do material, o coeficiente de variação estaria relacionado apenas à incerteza devido à massa de amostra utilizada. Nesse caso, os valores certificados poderiam ser escritos como descrito na equação 4:

$$\text{média} \pm H_e m^{-1/2}\ \%,\ m = \text{massa de amostra (mg)} \qquad (4)$$

Por exemplo, estabelecendo-se H_e = 5 e considerando-se a concentração de Cd igual a 200 ng g^{-1}, o coeficiente de variação poderia ser estimado substituindo-se o valor da massa de amostra empregada na equação 3. Desse modo, nas determinações de Cd em algas,[12] o coeficiente de variação era de 50% para porções de amostra de 0,01 mg, enquanto para massas de 10 e 100 mg, os coeficientes de variação foram 1,6 e 0,5%, respectivamente. Na avaliação da micro-homogeneidade de Cd em amostras de materiais de referência certificados de plástico, verificou-se que massas entre 13 a 27 mg de amostra poderiam ser utilizadas sem comprometer os resultados e, consequentemente, a representatividade.[17] Em outros trabalhos, usando a SS-GFAAS, também consta que porções de amostra entre 0,1 e 10 mg podem ser utilizadas para diversos tipos de materiais, sem comprometer a representatividade e os resultados analíticos.[18] Por outro lado, há relatos na literatura de que massas muito elevadas podem gerar resultados inexatos em SS-GFAAS. Um estudo que visava à determinação de cobre em complexo vitamínico mostrou que porções de amostra com massas relativamente elevadas geravam resultados superestimados; uma das causas apontadas estava relacionada à influência do resíduo da matriz que permanecia no atomizador, mesmo após a etapa de limpeza.[19] No caso de materiais inorgânicos, há relatos

na literatura de que massas entre 0,2 a 1 mg de rochas silicosas, dependendo do analito, são suficientes para análises com boa precisão. Massas superiores a essas, quando introduzidas no atomizador de grafite, podem inibir a difusão do vapor atômico.[20] Além desse efeito, há relatos da ocorrência de processos de adsorção na determinação de impurezas de silício em ouro; a supressão do sinal analítico de absorbância foi observada devido às partículas de ouro agirem como superfícies adsorvedoras dos átomos dos analitos na fase gasosa.[21]

5.2.3. Influência do tamanho das partículas na homogeneidade

Muitos autores têm observado melhora na precisão quando o tamanho das partículas é reduzido. Em geral, a homogeneidade é assegurada pela estreita distribuição do tamanho de partículas, preferencialmente inferiores a 10 μm.[3,9] No entanto, essa não deve ser uma regra geral, pois a relação entre a homogeneidade e o tamanho de partículas depende da natureza da matriz. Por exemplo, nas análises diretas de amostras de dióxido de titânio, os melhores resultados foram obtidos para diâmetros médios de partículas inferiores a 25 μm.[22] Por outro lado, para determinações elementares em rochas, as melhores precisões foram observadas quando as amostras foram moídas até um tamanho de partícula que variou de 0,3 a 25 μm.[20]

A diminuição do tamanho de partícula é uma forma de homogeneizar o material e pode ser feita por meio de procedimentos de moagem. Diversos tipos de moinhos podem ser utilizados, entre eles, os moinhos de jato de ar, criogênicos e mecânicos. A escolha do moinho depende de diversas propriedades da matriz, como a dureza e a quantidade de fibras e gorduras presentes na mesma.[23] Discussão mais detalhada é apresentada no Capítulo 4.

5.2.4. Calibração em análise direta de sólidos

Outro desafio da análise direta de sólidos é a calibração dos métodos. Em geral, nos métodos de amostragem de suspensões, as calibrações podem ser feitas com soluções aquosas. As exceções ocorrem quando interferências de transporte e espectrais imperam e, nesses casos, não se consegue reproduzir comportamentos similares entre as soluções aquosas e as suspensões.

Nas determinações com amostragem direta do sólido, as calibrações podem, em alguns casos, ser feitas com soluções de referência. Os exemplos mais bem sucedidos são as determinações com métodos de ETV-ICP OES, ETV-ICP-MS e SS-GFAAS. Nesses métodos, o programa de aquecimento permite que tanto soluções analíticas de calibração como a amostra sólida cheguem às mesmas vias de atomização, particularmente quando se utiliza modificadores químicos, o que minimiza as interferências químicas e, em alguns casos, também as espectrais. No caso dos métodos com ETV, o transporte da amostra desde o atomizador até o plasma também deve ser considerado. Na maioria dos casos, entretanto, CRMs são necessários para as calibrações. Conforme já mencionado, os CRMs disponíveis comercialmente asseguram homogeneidade para massas entre 100 e 500 mg,[3] muito superiores àquelas comumente exigidas em análise direta de sólidos. Nesse contexto, é importante produzir novos materiais e avaliar a aplicabilidade dos materiais existentes nas calibrações ou validações de métodos em procedimentos de microanálise. Cabe ressaltar que o NIST (*National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA*) está direcionando esforços para produzir esses novos materiais. Atualmente, existem poucos materiais de referência certificados para microanálise, como por exemplo, o sedimento marinho (NIST SRM 2703), cuja homogeneidade é garantida para massa igual ou superior a 0,7 mg,[24] e um material particulado urbano (*Urban Particulate Matter,* NIST SRM 1648a), cuja homogeneidade é garantida para massas iguais ou superiores a 5,0 mg (exceto para Hg, cuja massa mínima necessária é de 160 mg).[25] No caso de materiais biológicos, o fígado bovino (NIST SRM 1577c) apresenta as concentrações de Cu, Cd, Pb e Zn homogeneamente distribuídas em massas entre 20 e 70 microgramas. Neste caso, para a massa de 1 mg, a heterogeneidade contribuiu com 1 a 2 % da incerteza final dos resultados.

Em geral, CRMs com composição de matriz semelhante à da amostra que se deseja analisar são utilizados para a calibração. Embora existam mais de 12000 CRMs de diversas matrizes disponíveis comercialmente, encontrar materiais de uma mesma matriz, contendo diferentes concentrações de um determinado analito, é muito difícil. Dessa forma, novos meios para calibrações visando às análises diretas de sólidos são também necessários.

As calibrações dos métodos para análise direta de sólidos usando CRMs podem ser efetuadas de três formas distintas: (i) pesando-se massas crescentes de

um único CRM; (ii) utilizando CRMs de mesma matriz com concentrações diferentes do analito e (iii) utilizando-se CRMs de matrizes similares. O uso de massas crescentes de um mesmo CRM é recomendado para as técnicas que permitem amostragens discretas e diferentes massas, no caso SS-GFAAS, ETV-ICP OES e ETV-ICP-MS. Nesses casos, é preciso garantir a homogeneidade do CRM para massas diminutas e que as massas mais elevadas não comprometam processos de vaporização-atomização-ionização. Modificadores químicos podem ajudar na uniformização das vias de atomização. Casos mais raros envolvem a pesagem de mesma massa de CRMs com a mesma matriz, mas que possuem diferentes concentrações dos analitos. No entanto, garantir a reprodutibilidade na pesagem de massas tão pequenas não é tarefa trivial, sendo assim, correções baseadas na razão do sinal analítico obtido pela massa de amostra pesada podem ser adotadas. Por exemplo, pode-se construir a curva de calibração com base no sinal obtido pela massa do analito presente na porção tomada para medida. O uso de vários CRMs de matrizes semelhantes à da amostra que se deseja analisar também pode ser adotado. Esta prática tem sido muito comum em LIBS, técnica analítica que apresenta grandes limitações na calibração com soluções aquosas, ou mesmo com sólidos.

Outra forma usual de realizar a calibração é pelo método das adições de analito, baseado na adição de concentrações conhecidas dos elementos de interesse, na forma de sais inorgânicos ou de compostos orgânicos, nas amostras sólidas. É recomendado que o material seja bem homogeneizado, exigindo sistemas de moagem para garantir que o analito adicionado e a matriz da amostra estejam perfeitamente misturados. Para a calibração em LIBS, polímeros impregnados com Ba, Cd, Cr e Pb foram propostos para a análise de brinquedos;[26] em outra aplicação foi proposto o uso de pastilhas multivitamínicas misturadas com celulose em diferentes proporções visando à determinação de macro e micronutrientes nos suplementos.[27] Para a análise de soluções aquosas por LIBS, Chen *et al.* utilizaram lâminas de madeira como suporte para soluções-padrão visando à construção de curvas analíticas de calibração.[28] Em outra estratégia de calibração para a determinação de macronutrientes em plantas por LIBS, foram utilizados CRMs de matrizes diversas (folhas de macieira e pessegueiro, soja, flocos de arroz, galhos e arbustos, repolho, espinafre e milho) contendo diferentes concentrações dos analitos.[29]

A calibração com material de referência secundário, obtido pela adição de elementos de interesse a um material suporte, é outra alternativa. O uso de papel de filtro impregnado com massas crescentes de Cu e Zn foi uma proposição bem-sucedida como material para calibração de SS-GFAAS para análises de plantas.[30] Bons resultados foram obtidos devido à otimização adequada do programa de aquecimento e o uso de modificadores químicos. Calibração por meio de adição de K e Mg em celulose e mesocarpo de babaçu foi empregada com sucesso em análises de plantas por LIBS.[31] Nesse caso, foi imprescindível o controle do tamanho das partículas, que influencia a homogeneidade nesse tipo de matriz. Em geral, os mecanismos de decomposição e vaporização das partículas, assim como a eficiência de atomização, excitação e emissão do analito nas determinações em LIBS afetam diretamente a qualidade dos resultados analíticos, que também depende do compromisso entre a fluência do *laser* empregada na análise e o tamanho das partículas da amostra,[32] que será melhor discutido no item 5.2.5.3.

5.2.5. Análise direta de sólidos por técnicas espectroscópicas

A análise direta de sólidos pode ser feita seguindo dois procedimentos distintos: *via* suspensão ou amostragem direta.[33] Apesar de reunir diversas vantagens, o procedimento de suspensão não está isento de algumas dificuldades. Pode-se destacar como fator crítico a estabilidade da suspensão, que pode comprometer a reprodutibilidade na amostragem e, consequentemente, a precisão. Outro fator que deve ser rigorosamente controlado é o tamanho de partículas, pois esse pode prejudicar a eficiência no transporte ou causar entupimento dos nebulizadores (*e.g.* ICP OES, ICP-MS e FAAS).

Apesar dos inúmeros esforços para adaptar diferentes técnicas espectroscópicas à análise direta de sólidos, pode-se dizer que nenhuma delas se mostra inteiramente satisfatória. Idealmente, um método de análise direta de sólidos deve:[3] (i) ser aplicável a uma grande variedade de amostras; (ii) ser relativamente rápido; (iii) possibilitar o emprego de diferentes tipos de calibração; (iv) possibilitar a análise de elevadas massas de amostra para evitar problemas de homogeneidade; (v) ser multielementar; (vi) apresentar baixo custo por análise e (vii) apresentar boa precisão e exatidão.

Os ICPs são excelentes fontes de vaporização, atomização, ionização e excitação de espécies químicas. Na maioria das aplicações analíticas, a amostra é conver-

tida em solução antes de ser introduzida no equipamento. Esse requisito deriva da vasta experiência na nebulização dos líquidos, que facilitou o desenvolvimento inicial dos plasmas analíticos. No entanto, não há maiores limitações ao uso dos ICPs para análise direta de sólidos. Pelo contrário, a elevada energia do plasma, que melhora a eficiência de atomização, torna os ICPs potencialmente atrativos para essa aplicação.

Em análise direta de sólidos por ICPs, sistemas de introdução de amostra específicos são necessários.[34] Os nebulizadores com ranhura em V e fluxo cruzado são comumente empregados para introdução de soluções ou suspensões,[34] enquanto a ablação com *laser*[35] e vaporização eletrotérmica[36] possibilitam a amostragem direta de sólidos. A principal dificuldade encontrada na utilização de nebulizadores para a introdução de suspensões está relacionada ao tamanho de partículas, que deve ser rigorosamente controlado para que a eficiência no transporte e a sensibilidade não sejam prejudicadas.[37]

Na ablação com *laser*, a amostra é colocada em uma câmara de ablação, que é devidamente fechada e através da qual flui um gás carregador (Ar ou He). Um *laser* pulsado de alta energia é, então, focalizado na superfície da amostra através de uma janela. Se a irradiância (potência do pulso do *laser* por unidade de área) for suficientemente alta, o material sólido será ablado, gerando vapor, partículas e aglomerados. O aerossol sólido formado, durante o pulso do *laser*, é transportado pelo gás carregador para a tocha do ICP, onde as partículas são vaporizadas, atomizadas e ionizadas.[38] Em ICP OES os átomos e íons excitados geram espectros de emissão característicos; em ICP-MS os íons formados geram os espectros de massa correspondentes. Embora esse sistema possibilite utilizar microgramas de amostras e a caracterização espacial de homogeneidade da amostra, a ablação com *laser* apresenta algumas limitações que dificultam a larga utilização em laboratórios de rotina. O custo relativamente alto, a baixa eficiência no transporte, a necessidade de um rigoroso controle sobre o tamanho de partículas e a dificuldade para a calibração são alguns exemplos.

A atomização eletrotérmica, por sua vez, apresenta algumas vantagens quando comparada aos nebulizadores pneumáticos ou sistemas de ablação com *laser*. Sua elevada eficiência de transporte (100%) possibilita analisar pequenas massas de amostras e fornece menores limites de detecção em relação às técnicas que empregam nebulizadores pneumáticos. Adicionalmente, o programa de aquecimento possibilita a remoção da matriz, minimizando a ocorrência de interferências.

Assim como os ICPs, a FAAS, conhecida por analisar comumente amostras na forma de solução, também possibilita a análise na forma de suspensão ou sólido direto. No entanto, a nebulização de suspensões apresenta baixas eficiências de transporte e de atomização, pois as partículas sólidas são mais difíceis de serem transportadas e vaporizadas que as gotículas de soluções. Adaptando um sistema especial para introdução de amostras sólidas na chama foram possíveis determinações diretas de elementos como Cd, Cu e Mn em sedimentos, fígado bovino e carvão por FAAS.[39-41] Os resultados obtidos foram satisfatórios, mas a necessidade de um controle rigoroso no tamanho das partículas visando à melhoria na eficiência do transporte foi uma das dificuldades que teve que ser superada. Outro problema foi a necessidade de construir a curva de calibração com materiais de referência com composição semelhante àquela das amostras, pois a composição da matriz afetava os processos de transporte e atomização.

A GFAAS apresenta algumas características que favorecem a amostragem direta de sólidos, seja na forma de suspensão ou na forma de introdução direta:[11] (i) o programa de aquecimento que permite o pré-tratamento térmico da amostra, sobretudo durante a etapa de pirólise, facilita a remoção de parte dos concomitantes que podem provocar interferências durante a atomização; (ii) pequenas quantidades de amostras podem ser analisadas; e (iii) apresenta boa seletividade e sensibilidade. Além disso, os problemas relacionados ao sistema de transporte são praticamente inexistentes, uma vez que o transporte das suspensões é feito por amostragem discreta (não depende de nebulizadores), enquanto os sólidos são pesados diretamente nas plataformas de grafite que são, posteriormente, introduzidas no atomizador eletrotérmico. A adequada otimização dos programas de aquecimento, aliada ao uso de modificadores químicos, tem possibilitado a calibração do equipamento com soluções de referência. Devido a essas características, SS-GFAAS tem se mostrado muito atrativa e promissora para a determinação de elementos em níveis de traços e ultra-traços em diversos tipos de amostras sólidas, e vem se concretizando como uma alternativa rápida e simples.[3,11,42]

5.2.5.1. Análise direta de sólidos por SS-GFAAS

A SS-GFAAS é quase tão antiga quanto a própria técnica de AAS. Boris L'Vov foi um dos pioneiros, quando testou o desempenho do seu modelo de forno

de grafite após a amostragem direta de NaCl, visando à determinação elementar de Cu.[43, 44] O primeiro forno de grafite idealizado por L'Vov apresentava uma configuração bastante adequada para amostragem direta de sólidos.[45] Na simplificação do modelo, posteriormente proposta por Massmann, e que foi aquela adotada pela maioria dos fabricantes, a amostragem direta de sólidos não era tão trivial.[46] Acredita-se que, por esse motivo, a técnica de GFAAS é utilizada até hoje predominantemente para a análise de amostras na forma de solução.[2]

Ao longo do desenvolvimento instrumental da GFAAS, diversos acessórios e modificações nos fornos surgiram na tentativa de facilitar a análise direta de sólidos.[2,3,47] Nesses trabalhos iniciais, as adaptações visavam à introdução de amostra sólida em um atomizador convencional utilizado para amostragem de soluções aquosas.

Apesar do interesse na análise direta de sólidos por GFAAS, as pesquisas que culminaram em um modelo de forno de grafite designado para essa finalidade se intensificaram a partir da década de 80.[2] Dois fatores causaram esse crescente interesse: o surgimento dos tubos de grafite com aquecimento transversal, que conferem maior isotermicidade durante a atomização, e o uso de corretores de radiação de fundo baseados no efeito Zeeman, que apresentam melhor eficiência do que os corretores com lâmpada de deutério.[47]

Atualmente, encontram-se comercialmente disponíveis espectrômetros de absorção atômica com atomização em forno de grafite que operam no modo convencional, com solução aquosa, ou com amostragem direta de sólidos. Um desses equipamentos, o espectrômetro de absorção atômica com atomização em forno de grafite com fonte contínua de alta resolução (HR-CS-SS-GFAAS) vem sendo utilizado com sucesso para a análise direta de diversos tipos de amostras sólidas.[48,49] Nesses equipamentos, a amostra é pesada diretamente sobre uma plataforma de grafite pirolítico (Figura 5.2), que é inserida no interior do tubo de grafite, por uma janela lateral, com auxílio de uma pinça.[50] Esses sistemas de amostragem podem ser muito simples, com operação manual (Figura 5.3a), ou mais sofisticados, com as operações totalmente automatizadas (Figura 5.3b).

Figura 5.2. Plataforma de grafite pirolítico utilizada em SS-GFAAS. Reproduzida com permissão: Analytik Jena AG (www.analytik-jena.com).

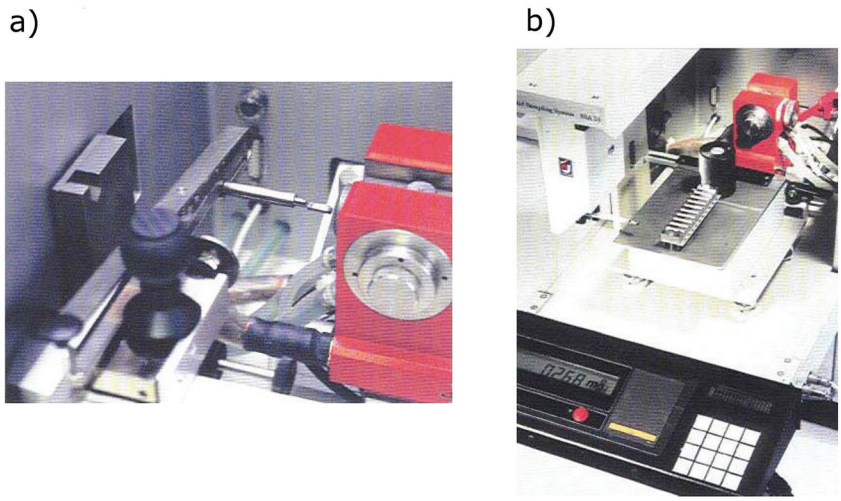

Figura 5.3. Fotografias de amostradores de sólidos: (a) manual e (b) automático. Reproduzidas com permissão: Analytik Jena AG (www.analytik-jena.com).

Influência do tamanho das partículas na atomização em forno de grafite

Sinais transientes de absorbância provenientes de elementos que se encontram em solução e daqueles que estão associados à matriz podem apresentar diferenças no tempo de aparecimento e na duração. O sinal de absorbância para o Pb, proveniente da suspensão de sedimento, por exemplo, possui maior duração em relação àquele obtido com solução aquosa. Essas diferenças se devem principalmente às condições do forno, aos efeitos de transferência de calor, à cinética de evaporação do analito e às forças físicas e químicas existentes entre o analito e a matriz sólida.[2,47] Muitas vezes, quando a amostra é introduzida na forma de solução, a etapa de secagem do programa de aquecimento resulta em uma deposição uniforme dos microcristais dos sais. Esses entram em contato direto com a superfície da plataforma de grafite tornando a transferência de calor mais efetiva facilitando a atomização. No entanto, quando uma amostra sólida é introduzida, a distribuição

das partículas sobre a plataforma não é tão uniforme. Nesse caso, a transferência de calor para partículas maiores é menos eficiente em relação aos microcristais obtidos das soluções, resultando, assim, no alargamento do sinal de absorbância.

Outro aspecto que dificulta o processo de atomização é a velocidade de difusão do analito através da amostra. Nesse contexto, o tamanho da partícula se torna um parâmetro crucial, uma vez que o tempo de migração do analito dependerá do diâmetro médio da partícula, ou seja, quanto maior a partícula, maior será a dificuldade para o analito se libertar da mesma, alterando, assim, a cinética de atomização. Em soluções aquosas, essas variações são desprezíveis quando a medida do sinal analítico de absorbância é feita em área de pico. Na análise direta de sólidos, o alargamento do pico pode estar também relacionado a parâmetros difusionais e à oclusão.

Baixa eficiência de atomização, devido à dificuldade de difusão do analito, foi verificada na determinação de Cu, Co, Cr, Mn, Fe e Ni em vidro.[51] O tempo de aparecimento dos sinais de absorbância de Mn e Fe, em amostras de pó de vidro introduzidas na forma de suspensão, era maior em relação àqueles obtidos com soluções aquosas. Estudos de microscopia revelaram que as partículas de vidros se fundiam durante a etapa de secagem e se aglomeravam formando gotas grandes. Essas, por sua vez, atuavam como uma barreira aos analitos, dificultando sua vaporização.

Takada e Hirokawa observaram que a área superficial das partículas exerce importante influência sobre o processo de atomização do Cu em amostras de aço.[52] Segundo os autores, quando sucessivos procedimentos de atomização são aplicados a uma amostra com partículas de forma esférica, somente após *n* atomizações o sinal de absorção desaparece. Isso ocorre, pois cada esfera é subdividida em várias camadas com uma determinada espessura (d), como apresentado na Figura 5.4.

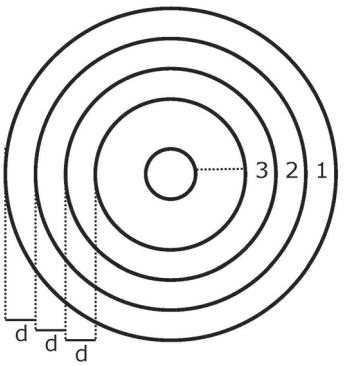

Figura 5.4. Modelo das repetidas atomizações para amostras com partículas esféricas. Adaptada da referência 52.

Durante a primeira atomização, o Cu presente na camada mais externa é vaporizado (camada 1), enquanto o Cu da segunda camada difunde-se para a primeira, o Cu da terceira camada difunde-se para a segunda e assim sucessivamente. Na segunda atomização, o Cu da camada mais externa é atomizado e todo o processo de difusão se repete. Sendo assim, de acordo com o modelo proposto, é possível entender que, quanto maior o tamanho da partícula, maior tempo ou temperatura de atomização serão necessários para atomizar todo o analito.

Aplicações da SS-GFAAS

As principais aplicações da GFAAS na análise direta de sólidos estão relacionadas a:[11,42] (a) análise de materiais refratários de difícil decomposição; (b) análise de materiais de alta pureza; (c) análise de pequenas quantidades de amostra; e (d) avaliação da micro-homogeneidade de materiais.

(a) Análise de materiais refratários de difícil decomposição

A possibilidade de analisar materiais sólidos diretamente, sem a necessidade de decomposição, é um atrativo da SS-GFAAS, principalmente nos casos em que as amostras são refratárias. Em geral, esse tipo de amostra requer condições drásticas para a solubilização completa, que incluem elevada temperatura e/ou pressão, e misturas de diferentes reagentes. Existem, ainda, situações nas quais a solubilização da amostra é alcançada somente mediante procedimentos de fusão.[53] Nesses casos, a introdução de contaminantes é bastante provável e o elevado teor salino da solução final pode comprometer a qualidade dos resultados analíticos.

Schäffer e Krivan verificaram que a determinação direta de alguns elementos em amostra de carbeto de silício por SS-GFAAS era muito mais atrativa, simples e rápida do que aquela obtida após submetê-la à digestão ácida. No procedimento desenvolvido, a determinação era efetuada em alguns minutos, enquanto o processo de digestão demorava cerca de 12 h em sistema fechado (alta pressão), utilizando misturas de ácidos concentrados (HF, HNO_3 e H_2SO_4).[54] A decomposição de amostras de óxidos de tungstênio também é bastante demorada (6 h) e requer condições drásticas (alta pressão, alta temperatura e uso de mistura de reagentes). No entanto, Hornung e Krivan desenvolveram um procedimento rápido (3 a 6 min) para a determinação direta de algumas impurezas nesse tipo de amostra.[55]

Da mesma maneira, Krivan e Janickova determinaram 9 impurezas em óxido de zircônio de alta pureza e a técnica SS-GFAAS apresentou limites de detecção muito melhores que os procedimentos convencionais. Além disso, por possibilitar a separação *in situ* do analito da matriz, o tempo de análise pode ser reduzido de algumas horas para somente alguns minutos.[56] Trabalhos mais recentes mostraram algumas aplicações de SS-GFAAS para determinações elementares em amostras de nanotubos de carbono,[57] matéria-prima para produção de poliuretana,[58] alumina,[59] e amostras de solo e sedimento.[60]

(b) Análise de materiais de alta pureza

O risco de contaminação em SS-GFAAS é reduzido, uma vez que a manipulação e o uso de reagentes são mínimos. Com isso, é possível alcançar baixos valores de branco analítico e melhores limites de detecção. Além disso, devido à elevada sensibilidade, a SS-GFAAS tem sido intensamente empregada nas determinações de alguns elementos em materiais tecnológicos de alta pureza. O carbeto de silício,[54] óxido de tungstênio,[55] óxido de zircônia,[56] alumina,[59] e pentóxido de nióbio[61], são alguns exemplos.

Huang e Krivan desenvolveram um procedimento para a determinação de algumas impurezas como Al, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, e Zn em pentóxido de nióbio de alta pureza.[61] Muitos desses metais devem estar presentes na amostra em concentrações inferiores a 0,2 μg g^{-1} pois, dependendo da aplicação, a pureza exigida desse material varia de 99,9 a 99,999%. Para cada determinação, massa de aproximadamente 15 mg de amostra foi necessária. Os limites de detecção obtidos variaram de 0,5 a 2 ng g^{-1}, ou seja, 330 vezes melhores do que os obtidos após digestão e análise por GFAAS.

Resultados semelhantes foram obtidos na determinação de alguns elementos em óxido de alumínio de alta pureza.[62] Enquanto os limites de detecção nas análises de suspensões variaram de 5 a 130 ng g^{-1} por GFAAS e de 2,1 a 900 ng g^{-1} por ICP OES, os valores estimados para SS-GFAAS foram de 0,5 ng g^{-1} Zn e 25 ng g^{-1} Co.

Dong e Krivan também fizeram uso da SS-GFAAS para determinar Si em óxidos de nióbio, titânio e zircônio.[63] Como esses materiais têm importantes aplicações no campo da alta tecnologia, o grau de pureza exigido deve ser superior a 99,997%. Particularmente para a determinação de Si, a sua concentração deve

ser superior a 1 μg g^{-1}. Dentre os vários métodos testados, como a análise de suspensão por GFAAS e ICP OES, ou a análise direta de sólidos por XRF e SS-MS, a SS-GFAAS foi a que apresentou melhores limites de detecção e a única que possibilitou a quantificação de Si em amostra de óxido de nióbio (1,1 μg g^{-1}).

(c) Análise de pequenas quantidades de amostra

Em certos casos, a determinação de baixas concentrações é acompanhada de um complicador adicional: a quantidade de material disponível para análise. Como exemplo, pode-se citar as investigações de intoxicação por exposição a elementos tóxicos por meio de análises de fluidos e tecidos biológicos. Devido a muitos desses materiais serem obtidos por meio de procedimentos como a necrópsia ou biópsia, nas quais a quantidade retirada é muito pequena, o uso da SS-GFAAS para a determinação elementar se torna uma opção conveniente.

Na tentativa de simular uma situação real de biópsia, Herber e colaboradores determinaram Cd em placenta de rato por GFAAS pela análise direta e após decomposição da amostra.[64] Os autores confirmaram experimentalmente que a análise direta era mais rápida e menos susceptível à contaminação, sendo por isso a mais conveniente nessas situações. A SS-GFAAS também foi explorada com sucesso na determinação de Al em cérebro proveniente de necrópsia e em mucosas retiradas por procedimentos de biópsia.[65]

A análise química aplicada às investigações forenses é outra situação na qual, geralmente, a disponibilidade de amostra é baixa. A análise de resíduos de armas de fogo (GSR, do inglês *gunshot residues*), que contribui significantemente na investigação de casos criminais envolvendo armas de fogo, é um exemplo. GSR são substâncias liberadas das armas durante o disparo e que podem, posteriormente, ser determinadas por diferentes métodos analíticos. Os elementos comumente determinados são Pb, Ba e Sb, além de Sn, Ti, Mn, Hg, Al, Cu, Fe, Si, K e S, pois os mesmos fazem parte da composição das armas e projéteis. De um modo geral, a análise de GSR auxilia na reconstrução do evento e fornece informações sobre o autor do disparo e sobre o tipo de arma e munição utilizados. Lichtenberg avaliou a distribuição de Pb e Sb por SS-GFAAS na mão de um suspeito de ter feito disparos com armas de fogo. Nesse estudo, foi possível quantificar os elementos ao longo do dedo indicador até parte da mão onde a arma é apoiada. A concentração do elemento de interesse foi maior na ponta do dedo e

na mão, sendo que os menores valores encontravam-se ao longo do dedo.[66] Em outro trabalho, foi avaliada a distribuição de Pb nos tecidos musculares de patos após disparos com arma de fogo.[67]

A avaliação de penas de aves como biomonitores de contaminação exemplifica a aplicação da SS-GFAAS na forense ambiental. No estudo conduzido por Hahn e colaboradores, amostragens de pequenas massas ao longo das penas de aves mostraram que o Cd e Pb estavam presentes em maiores concentrações na parte externa da pena (região mais distante da raque), indicando que a contaminação dos animais era exógena. Ao contrário, a concentração de Hg era praticamente a mesma ao longo de toda a pena, indicando contaminação endógena, proveniente de alimentos.[68]

A análise de cabelo para fins forenses é outro importante exemplo. O primeiro caso de investigação de envenenamento através da análise de cabelo foi publicado em 1858, por Hoppe, na Inglaterra, quando determinou As no cabelo de um cadáver exumado 11 anos após o sepultamento.[69] Em outro trabalho, a determinação de Cd e Pb foi feita ao longo de fios de cabelo para avaliar a distribuição e correlacionar com a contaminação endógena e exógena.[70]

Um fato que merece destaque é a investigação sobre a morte de Napoleão Bonaparte, na qual sua sucessiva exposição ao As pôde ser verificada através da análise de seu cabelo por ativação neutrônica instrumental. Segmentos do cabelo foram analisados permitindo verificar as diferentes exposições de Napoleão ao As. Isso foi possível, pois o As ligou-se irreversivelmente às proteínas do cabelo, cujo crescimento diário do folículo é de aproximadamente 0,35 mm, fazendo com que a distribuição do elemento ocorresse de forma segmentada.[71] Partindo dessa mesma ideia, cabelos de uma população de um vilarejo no Iraque também foram analisados para comprovar a contaminação por Hg proveniente do trigo (utilizado na fabricação de pães) tratado com fungicida à base de compostos de mercúrio.[72] Além dessas, são muitas as aplicações voltadas à análise de cabelo. Dentre elas pode-se destacar a determinação de elementos-traço como uma ferramenta para avaliar o estado nutricional ou toxicológico,[73, 74] o impacto ambiental sobre a saúde humana,[75,76] e para desvendar crimes e investigar casos de morte por envenenamento.[77]

(d) Avaliação da micro-homogeneidade de materiais

Os CRMs desempenham papel fundamental no controle de qualidade analítico e têm sido intensamente utilizados na Química Analítica. A necessidade

de se comparar resultados entre laboratórios e entre países cresceu a partir de 1906, período no qual a NBS (*US National Bureau of Standards*, atual NIST) iniciou o fornecimento de CRMs. Desde então, a confiabilidade analítica e a validação de métodos dependem da disponibilidade desse tipo de material.[78]

Os CRMs são produtos relativamente caros,[79] pois sua produção é bastante complexa e exige muitos cuidados para que a qualidade analítica do material seja mantida. Evitar perdas de compostos ou contaminações durante a transformação do material e manter a composição química do mesmo são alguns dos cuidados requeridos.[80,81] Além disso, muitos desses materiais, principalmente os biológicos, requerem condições de armazenamento especiais como temperatura e umidade controladas.[79]

Como os CRMs são materiais com propriedades e homogeneidade bem definidas, deve ser avaliada a composição do material antes, durante e depois da produção. A detecção de eventual contaminação ou perda do analito durante a produção do material e a avaliação das mudanças na micro distribuição dos elementos nas amostras são alguns dos controles mais comumente realizados.[82,83] A SS-GFAAS vem sendo utilizada para realizar tais controles na produção e padronização de CRMs de diversos tecidos animais. Segundo Pauwells e colaboradores, essa técnica apresenta 3 características importantes que são exigidas nessa situação:[84] (i) o método não deve requerer pré-tratamento de amostra para que contaminações ou perdas de analitos por volatilização sejam evitadas; (ii) análises precisas devem ser realizadas utilizando massas de amostras muito pequenas (<1 mg); e (iii) o procedimento deve ser rápido e permitir que grande número de análises seja feito em curto espaço de tempo.

A aplicação da SS-GFAAS na avaliação da micro-homogeneidade de materiais é uma das mais frequentes. Nomura e colaboradores avaliaram a homogeneidade de Cu e Zn[85] e de Cd e Pb[86] em fígado bovino certificado e alguns materiais preparados no laboratório. Nesse trabalho, os autores observaram que, apesar de o material de referência certificado (NIST SRM 1577b) garantir homogeneidade para massa superior a 250 mg, massas inferiores a 0,100 mg puderam ser utilizadas sem afetar a precisão e exatidão dos resultados analíticos. No estudo visando avaliar a homogeneidade na distribuição de Cd e Pb em materiais certificados de farinhas de trigo e de arroz, fígado e músculo bovinos, leite em pó, rim suíno, pão e peixe, proposto por Mohl e colaboradores,[87] as massas de amostras variaram de 0,04 a 5 mg. Os autores observaram que a distribuição de Cd em farinha de milho e arroz era homogênea, enquanto em fígado bovino, a distribuição era heterogênea.

Com relação ao Pb, o rim suíno mostrou-se mais homogêneo que o fígado bovino. Da mesma maneira, Pauwels e colaboradores[84] verificaram que Cd e Pb não estão homogeneamente distribuídos em amostras de músculo de bacalhau certificado. Por outro lado, a distribuição de Hg, Fe e Zn é homogênea. Bagschick e colaboradores demonstraram que a homogeneidade de Cd, Cu, Ni e Pb em diversos vegetais era bastante satisfatória, mesmo em massas de amostra inferiores a 2 mg.[88]

5.2.5.2. Análise direta de sólidos por LA-ICP-MS

O sistema de introdução de amostras desempenha um papel importante no desempenho analítico em ICP-MS. Há sistemas comercialmente disponíveis para a introdução de gases, líquidos e sólidos.[89] Os sistemas de introdução de amostras por nebulização são os mais comumente utilizados para soluções. Porém, os vaporizadores eletrotérmicos (ETV-ICP-MS),[90] utilizados para amostragem de sólidos e líquidos e os sistemas de introdução por ablação como *laser*,[91,92] predominantemente utilizados para amostragem de sólidos, estão entre os mais inovadores na busca de alternativas para a resolução de problemas analíticos.

O aumento da demanda pela análise direta de amostras sólidas, incluindo materiais biológicos,[93] resíduos ambientais e química forense,[94] materiais de interesse geoquímico, filmes finos, tintas e semicondutores, levou ao desenvolvimento do sistema de introdução de amostras por ablação a *laser* (LA) para ser acoplado, principalmente, à espectrometria de massas com fonte de plasma (LA-ICP-MS). Esse sistema vem se firmando como uma poderosa ferramenta para a análise direta de sólidos, buscando atender a demandas como rapidez, sensibilidade, resolução espacial e capacidade multielementar.[91,95] As fontes de *laser* vêm sendo aprimoradas desde a proposição, em meados dos anos de 1980, e diversos tipos de *lasers,* com comprimentos de onda desde o ultravioleta até o infravermelho, foram propostos. Porém, há predominância de *lasers* de Nd:YAG operando em regime temporal de nanossegundos nos comprimentos de onda de 193, 213 e 266 nm, para as mais diversas aplicações analíticas.[91,96] Apesar do custo relativamente elevado, *lasers* em regime temporal de femtossegundos (*e.g.* Ti:Safira), com comprimento de onda de 800 nm, são os mais recomendados em LA-ICP-MS.[90]

O sistema de amostragem por ablação com *laser* é composto de um compartimento fechado, contendo uma câmara onde flui um gás inerte (argônio ou

hélio) para transportar a amostra até o plasma. No processo de ablação, os pulsos do laser são focalizados na superfície da amostra e, ao interagirem com a matéria, provocam uma onda de choque capaz de remover as partículas, que são transportadas na forma de um aerossol até o ICP.[96]

A simplicidade na manipulação da amostra, o espectro relativamente simples e a alta sensibilidade do ICP-MS podem ser considerados os pontos atrativos para determinações qualitativas e quantitativas utilizando o sistema de ablação com *laser*. Adicionalmente, os parâmetros de amostragem e de ionização/detecção podem ser otimizados separadamente, o que permite maior flexibilidade no desenvolvimento dos métodos. No entanto, problemas relacionados à calibração do instrumento necessitam ser superados. Não há materiais de referência para todos os tipos de amostras e um outro aspecto relevante é que a maioria dos materiais disponíveis não são certificados para massas tão diminutas quanto aquelas que são vaporizadas durante o processo de ablação com *laser*. Além da calibração, há que se tomar cuidado com os efeitos não estequiométricos que podem ocorrer durante a amostragem, transporte do aerossol, vaporização, atomização e ionização no ICP. Esses efeitos são conhecidos como fracionamento elementar e podem levar a erros nas determinações quantitativas. Além de proporcionar processos de ablação mais uniformes, o uso de *laser* com comprimento de onda de 193 e 266 nm em atmosfera de argônio ou hélio, e, principalmente, o uso de pulsos em regime temporal de femtossegundos, minimiza os efeitos de fracionamento, fazendo com que o aerossol formado seja o mais representativo possível da amostra como um todo.[91,96]

5.2.5.3. Análise direta de sólidos por LIBS: características e aplicações

> *"The ability to analyze a sample rapidly and apparently very simply by merely pointing and firing a laser seems the stuff of science fiction that has been realized"*
>
> *Cremers e Chinni, 2009* [97]

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por *laser* (do inglês, *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy - LIBS*) é uma técnica que permite a análise direta de sólidos e se baseia nas medidas de emissão de espécies atômicas,

iônicas e moleculares presentes em um plasma induzido por um pulso de *laser* focalizado na superfície da amostra. O *laser* é usado tanto para amostragem, como fonte de vaporização, atomização e excitação das espécies presentes na amostra. Podem ser utilizados *lasers* de N_2, F_2, CO_2, KrF, ArF, XeCl e Ti:safira, mas o mais empregado é o *laser* pulsado de Nd:YAG, no comprimento de onda fundamental (1064 nm), operando em regime temporal de nanossegundos, com pulsos de duração entre 5 e 10 ns e taxa de repetição entre 1 e 10 Hz.[98] Alternativamente, podem ser utilizados *lasers* com duração de picossegundos a femtossegundos. Em geral, LIBS utiliza um feixe de *laser* pulsado de alta irradiância, da ordem de GW cm^{-2}, focalizado na superfície da amostra, que provoca a remoção de uma pequena massa de material (*e.g.* 1 – 10 μg/pulso) e a formação de um plasma de alta temperatura (*e.g.* 8000 a 20000 K). Parte da massa amostrada no processo de ablação interage com o plasma, no qual ocorrem processos de vaporização e excitação das espécies químicas presentes. A radiação emitida pelos átomos, íons e, eventualmente, fragmentos de moléculas excitados é coletada por um sistema óptico e direcionada para a fenda de entrada de um espectrômetro de emissão óptica. O espectro de emissão é usado para identificar os elementos presentes na amostra e a intensidade das linhas de emissão no comprimento de onda característico do analito é utilizada como resposta analítica para a quantificação.

O desenvolvimento de LIBS está diretamente relacionado com os avanços na tecnologia dos *lasers*. O primeiro *laser* foi o de rubi, construído em 1960[99, 100] e usado em 1962 por Brech e Cross[101] para produzir vapores na superfície de materiais metálicos e não-metálicos. Esses vapores foram excitados por uma fonte de energia auxiliar para formar um microplasma, obtendo-se um espectro de emissão formado por linhas atômicas e iônicas. Esse experimento marcou o nascimento de LIBS.[102] O avanço tecnológico nos componentes ópticos e eletrônicos possibilitou o desenvolvimento e miniaturização de diferentes tipos de *laser*, surgindo a possibilidade da aplicação em análises diretas e *in situ*. A década de 80 foi marcada pelo desenvolvimento de *lasers* mais compactos, robustos e de menor custo, assim como de detectores mais sensíveis, com melhor resolução espectral e temporal, e melhor discriminação entre o espectro de emissão e o espectro de fundo causado pelo *continuum* de emissão do plasma.[103] Desde então, o interesse por LIBS vem aumentando e os resultados apresentados na literatura destacam grandes avanços e potencialidades para análises de amostras sólidas. Nesse sen-

tido, a técnica apresenta uma série de características relevantes, com os seguintes destaques: (i) análises rápidas de amostras sólidas, com mínimo ou nenhum preparo de amostra; (ii) análises multielementares e simultâneas; (iii) análises de superfícies e de profundidade com curto tempo de aquisição do espectro (geralmente de 1 a 20 espectros por segundo, dependendo da taxa de repetição do *laser*); e (iv) análises qualitativas e semi-quantitativas em tempo real.

No caso de análises quantitativas, a qualidade dos resultados está diretamente relacionada com a forma de apresentação das amostras sólidas e de fatores que afetam as interações com os pulsos do *laser* (*e.g.* densidade, porosidade e topografia). Outros fatores que afetam as determinações por LIBS estão relacionados às propriedades do *laser* (*e.g.* comprimento de onda, duração do pulso, número de pulsos, taxa de repetição e arranjo óptico), à atmosfera de ablação (*e.g.* tipo de gás e pressão), e às condições de medida (*e.g.* coleta da radiação emitida pelo plasma, seleção das linhas de emissão atômicas ou iônicas de interesse, tempo de atraso e tempo de integração).

Preparo de amostras para análises por LIBS

De modo geral, as amostras sólidas podem ser analisadas diretamente por LIBS, tanto *in natura,* como na forma de pastilhas preparadas a partir da prensagem do material seco e cominuído. Se as amostras apresentarem homogeneidade apropriada, é possível dispensar a etapa de preparo de amostras, como é o caso de análises de amostras de vidro,[104] ligas metálicas[105] e polímeros.[26,106] Cabe informar que os procedimentos de preparo de amostras em LIBS também podem ser aplicados para LA-ICP-MS e LA-ICP OES.

Para a análise de amostras heterogêneas (*e.g.* materiais biológicos e geológicos), recomenda-se preparar uma pastilha do material após um procedimento de moagem, visando à diminuição de problemas associados à heterogeneidade e distribuição do tamanho das partículas. Outra estratégia, usada por Sun *et al.*[107] para análises de materiais vegetais e por Jantzi e Almirall[108] para análises de solos, consiste em fixar a amostra cominuída em uma fita adesiva ou em uma fina camada de cola. Apesar deste procedimento parecer relativamente simples, algumas precauções devem ser tomadas. Deve-se garantir que a amostra suporte pulsos de alta fluência do *laser* e que a fita não seja perfurada. Além disso, dependendo do tipo de

adesivo utilizado, a fixação da amostra pode não ser completa. Assim, recomenda-se o preparo das amostras na forma de pastilhas prensadas.[29, 32, 109, 110]

A prensagem de amostras utilizando-se uma prensa hidráulica é uma forma de preparo de pastilhas. A amostra previamente cominuída é colocada no interior de uma matriz, que pode ser de aço inoxidável. Recomenda-se a aplicação de 8,0 t cm^{-2} por 3 a 5 min; após, a pressão é aliviada e a pastilha é retirada do interior da matriz para análise. A massa de amostra utilizada para o preparo das pastilhas dependerá do tipo e da densidade do material, do diâmetro e da espessura requeridos. Para pastilhas de tecidos vegetais, por exemplo, com 15 mm de diâmetro e 2 mm de espessura, são utilizados 0,5 g de amostra.[111] Para a produção de pastilhas de amostras de fertilizantes com essas mesmas especificações, a massa pode variar de 0,8 a 1,0 g de amostra.[112]

Para o preparo de pastilhas de tecidos vegetais, recomenda-se que as amostras apresentem partículas menores que 100 μm.[32] Nestas condições, a interação entre o *laser* e a amostra e os processos de vaporização, atomização e excitação das espécies no plasma induzido por *laser* são mais reprodutíveis, resultando em uma melhor precisão das medidas. Além disso, pastilhas preparadas com amostras com distribuição de tamanho de partículas menores são mais resistentes e coesas[32] e apresentam crateras mais uniformes após a ablação com *laser*. Santos *et al.*[111] avaliaram o efeito da distribuição do tamanho de partículas em pastilhas de materiais de referência certificados de folhas de espinafre (NIST 1570a) e de plantas aquáticas (BCR 060). Imagens de microscopia eletrônica de varredura, após a ablação com 30 pulsos de *laser* (Nd:YAG @ 532 nm, 10 Hz, 35 J cm^{-2}) mostram as diferenças marcantes na geometria das crateras formadas nas pastilhas preparadas com o material NIST 1570a, que apresenta 90% das partículas menores que 20 μm, e BCR 060, que apresenta 90% das partículas menores que 180 μm (Figura 5.5).

Carvalho *et al.*[32] estudaram a influência da distribuição do tamanho de partículas na determinação de P, K, Ca, Mg, Mn e B em material vegetal por LIBS. As pastilhas foram produzidas a partir das amostras previamente cominuídas em moinho criogênico e peneiradas em malhas com aberturas de 150, 106, 75, 53 e 20 μm. Diminuição significativa na rugosidade superficial da pastilha e aumento na precisão das medidas foram observados à medida que o tamanho de partículas foi reduzido. Pastilhas preparadas com partículas com diâmetro menor que 100 μm

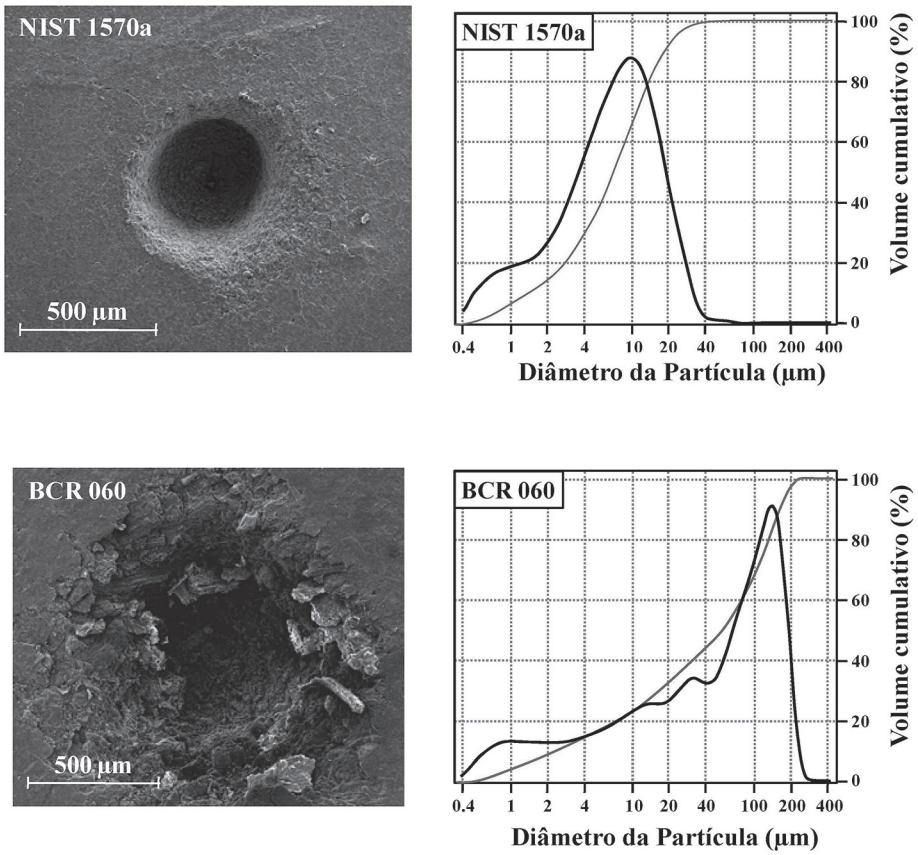

Figura 5.5. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (ampliação de 200 x) das crateras formadas após 30 pulsos de *laser* (Nd:YAG @ 532 nm, 10 Hz, 35 J cm^{-2}) em pastilhas de 15 mm (8 t cm^{-2}) do NIST 1570a, folhas de espinafre e BCR 060, planta aquática, e suas correspondentes distribuições de tamanho de partículas. Reproduzida da referência 111 com permissão da Elsevier.

apresentaram resistência mecânica apropriada, sem sinais de fratura ao redor da cratera e resultaram em coeficientes de variação menores que 10 %. Os mapas de distribuição de K, obtidos por micro-fluorescência de raios X dispersiva em energia (Figura 5.6) mostraram que as pastilhas preparadas com as partículas menores apresentaram uma distribuição mais homogênea desse elemento, concordando com os resultados obtidos por LIBS. Esta observação foi confirmada pelas razões das frações de massa entre os valores maiores e menores das escalas dos mapas obtidos (Figura 5.6). As razões variaram de 3,8 a 1,2 para pastilhas preparadas com frações menores que 150 µm e 20 µm, com coeficientes de variação das medidas por LIBS (50 J cm^{-2}; 750 µm de diâmetro de focalização) variando de 21 a 8,5 % (n = 10 crateras; 20 pulsos de *laser* por cratera), respectivamente.

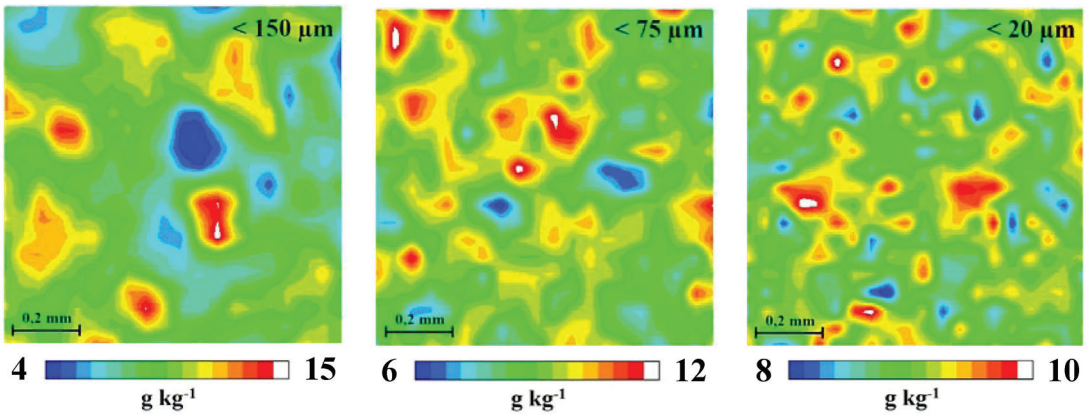

Figura 5.6. Distribuição espacial de potássio determinada por µ-EDXRF em pastilhas de material vegetal, preparadas a partir de frações peneiradas em malhas com abertura de 150, 75 e 20 µm. Imagens de 1 mm^2 obtidas a partir de 400 pontos de amostragem (diâmetro de focalização: 50 µm). Raio X característico monitorado: K Kα 3,31 keV. Reproduzida da referência 32 com permissão da Elsevier.

As pastilhas devem ser coesas e resistentes para suportar a onda de choque formada durante a expansão do plasma induzido por *laser*. A coesão das partículas agregadas na pastilha reflete diretamente na precisão das medidas, pois quanto mais compacta e mecanicamente resistente, mais reprodutível será a interação entre o *laser* e a amostra. Em alguns casos, quando a moagem não é suficiente para produzir pastilhas com características apropriadas para serem analisadas por LIBS, recomenda-se utilizar um material aglutinante para minimizar as diferenças na porosidade, garantir maior resistência e melhorar a eficiência de interação *laser*-amostra. Alguns tipos de aglutinantes têm sido utilizados para o preparo das pastilhas, por exemplo, celulose,[113-115] *UltraBind*®,[114, 116] álcool polivinílico,[114, 117] polietileno, KBr,[117] amido, Ag,[117] Al,[117] ácido bórico[116] e resina epóxi.[118] A escolha do aglutinante dependerá das propriedades da amostra, da resistência mecânica requerida da pastilha prensada, e do formato da cratera obtida após a ablação com *laser*. A proporção em massa de aglutinante no preparo das pastilhas pode variar entre 10 e 50 % e, para garantir a homogeneidade do material, recomenda-se moer a mistura amostra-aglutinante e, em seguida, preparar as pastilhas a serem analisadas por LIBS.

Para a análise de farinhas de trigo por LIBS, por exemplo, não é possível preparar pastilhas com resistência mecânica apropriada sem um aglutinante, pois as mesmas são frágeis, quebrando-se com muita facilidade. Em trabalho realizado por Peruchi *et al.*,[114] visando à determinação de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Mn e

Zn, avaliou-se o preparo das amostras com a adição de 10, 30 e 50 % (m/m) de celulose, *UltraBind*® e álcool polivinílico. O emprego do aglutinante foi decisivo para melhorar a qualidade das pastilhas. Melhores resultados foram obtidos com 30 % (m/m) de celulose e 30 min de moagem criogênica para homogeneização. Em outro trabalho,[115] amostras de farinha foram homogeneizadas com 50 % (m/m) de celulose para melhorar a coesão das partículas e aumentar a eficiência da interação *laser*-amostra.

Apesar da análise da amostra em forma de pastilha ser a mais recomendada, uma nova estratégia para a análise de folhas de cana-de-açúcar, sem a etapa de moagem, foi proposta por Guerra *et al.*[119] O preparo da amostra teste consistiu em dividir cada terço médio, previamente seco, da folha diagnóstico, em 40 fragmentos (1,5 – 2,0 cm de comprimento x 1,5 cm de largura). Para obter uma superfície plana, os fragmentos foram colocados entre dois discos de papel e prensados em prensa hidráulica, aplicando-se 3 t por 3 s. Os fragmentos da amostra foram colocados em um porta-amostras, que permite o movimento dos eixos x e y, e a amostragem baseou-se na varredura, com 48 pulsos do *laser* (Nd:YAG, 1064 nm, 5 ns, 10 Hz, 50 J cm^{-2}), em 3 linhas igualmente espaçadas na direção perpendicular à nervura das folhas. Esta estratégia possibilitou a determinação simultânea de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, B e Si por LIBS e a validação cruzada com a EDXRF para os elementos P, K, Ca, Fe, Mn e Si com coeficientes de correlação linear (r) superiores a 0,9778.

De maneira geral, LIBS é classificada como uma técnica microanalítica e no processo de ablação com *laser* a massa amostrada pode variar de 0,1 a 300 μg, dependendo da estratégia de amostragem. Dessa maneira, a qualidade dos resultados está diretamente relacionada com o método de preparo das amostras. Para outras informações e maiores detalhes sobre o preparo de amostras para análise por LIBS, sugere-se a leitura do artigo "*Sample treatment and preparation for laser-induced breakdown spectroscopy*",[110] assim como de outras revisões que mostram o estado da arte desta técnica[5, 102, 120-122] e de livros especializados.[6, 98, 123-125]

5.2.5.4. Análise direta de sólidos por fluorescência de raios X: características e aplicações

Características gerais da técnica

A espectrometria de fluorescência de raios X (XRF, do inglês, *X-ray fluorescence*) se baseia na medida da emissão de raios X característicos por átomos presentes em uma amostra. Para que ocorra este fenômeno, os átomos devem ser previamente excitados. As fontes de excitação mais comumente utilizadas são: i) feixe de elétrons, prótons ou partículas alfa; ii) raios X ou raios gama emitidos na desintegração de radionuclídeos; iii) tubo de raios X e iv) radiação síncrotron.[126] Na irradiação, ocorre a remoção de um elétron interno do átomo, seguida pelo preenchimento desta vacância por um elétron proveniente de uma camada eletrônica de maior energia e emissão de radiação na forma de raios X. A energia dos raios X emitidos é característica do elemento e a intensidade está relacionada à fração de massa do elemento na amostra. Esta técnica instrumental permite a análise direta de sólidos, líquidos e gases, requerendo mínimo tratamento das amostras.[127-129] Desde a descoberta dos raios X por W. C. Röntgen, em 1895,[130] e o seu potencial uso como técnica analítica, exposto por H. Moseley em 1913,[131] muitos avanços foram feitos, sobretudo nas últimas décadas, incluindo diversas aplicações analíticas. A fluorescência de raios X apresenta algumas vantagens: i) não é destrutiva; ii) é multielementar e simultânea e iii) permite o mapeamento elementar com elevada resolução espacial, dada a disponibilidade de equipamentos comerciais com diâmetros de focalização micrométricos.[132]

Os dois métodos mais empregados são a espectrometria de fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF, *energy dispersive* XRF) e a dispersiva em comprimento de onda (WDXRF, *wavelength dispersive* XRF). Os limites de detecção estão na ordem de mg kg^{-1}, permitindo a determinação de elementos com números atômicos entre o Na e o U, no caso da EDXRF, e entre o Be e o U, no caso da WDXRF.[129]

As aplicações da fluorescência de raios X na análise direta de sólidos abrangem a investigação da composição química de amostras biológicas, tais como tecidos vegetais ou animais, amostras geológicas, como solos, rochas e sedimentos, além de ligas metálicas, material particulado atmosférico, materiais cerâmicos e

poliméricos. Outra particularidade interessante desta técnica espectroscópica é a disponibilidade de sistemas portáteis com desempenho analítico similar a equipamentos de bancada, possibilitando a condução de pesquisas em diversas áreas, por exemplo, arqueologia, forense, ambiental, geologia e prospecção mineral.[126, 133, 134]

Para mais informações a respeito do estado da arte da fluorescência de raios X, o leitor pode acessar os artigos de revisão publicados anualmente pelo *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* sob o título: "*Atomic Spectrometry Update – a review of advances in X-ray fluorescence spectrometry*", assim como artigos publicados no periódico *X-Ray Spectrometry*. Para um maior detalhamento dos aspectos teóricos e práticos da fluorescência de raios X, aconselha-se a consulta aos seguintes livros: i) *X-ray fluorescence spectrometry and related techniques: an introduction*;[135] ii) *Handbook of X-ray spectrometry*;[134] e iii) *Handbook of practical X-ray fluorescence analysis*.[126]

Preparo de amostras para análise direta de sólidos por EDXRF e WDXRF

As principais estratégias de preparo de amostras sólidas na EDXRF e WDXRF são: i) dispersão do material previamente cominuído em porta-amostras; ii) preparo de pastilhas prensadas e iii) fusão. Amostras de metais e suas ligas normalmente não requerem tratamento preliminar, pois já possuem as características desejáveis, ou seja, homogeneidade e superfície plana.[136] A decisão sobre qual método de preparo adotar deve levar em consideração o tipo de matriz a ser analisada, o analito, o tempo requerido e a qualidade da informação analítica desejada, avaliada pela precisão e exatidão das medidas.

Para amostras heterogêneas, um procedimento de moagem pode ser necessário para atingir uma adequada distribuição do tamanho de partículas. No caso de materiais vegetais, ao se avaliar a relação entre o tamanho de partícula e a intensidade de emissão de raios X característicos, verificou-se que partículas inferiores a 710 μm são suficientes para garantir um sinal constante.[137] Uma vez cominuída, a amostra teste pode ser diretamente pesada em um porta-amostras previamente selado por um filme fino de material polimérico (*e.g.* 5-10 μm). Os principais filmes disponíveis comercialmente são conhecidos pelas marcas registradas: Etnom®, Kapton®, Mylar®, Prolene®, Ultralene®, Ultra-Polyester®, Zythene®, assim como os de policarbonato e os de polipropileno. Esses filmes poliméricos apresentam diferentes especificidades

no que se refere à espessura e composição química. A apresentação de amostras para análise na forma de pó solto (do inglês, *loose powder*) é vantajosa, sobretudo quando a amostra teste for analisada posteriormente por outro método. Quando se emprega o método do pó solto, deve-se verificar a resistência do filme fino utilizado para evitar a contaminação do equipamento pela dispersão da amostra pulverizada dentro do mesmo, lembrando que os filmes podem se deteriorar quando expostos a longos tempos de irradiação em equipamentos de elevada potência (3 – 4 kW). Para minimizar esta deterioração, algumas estratégias podem ser adotadas, como a otimização dos tempos de medida, redução da potência dos raios X incidentes, assim como o uso de filtros de feixe primários.[138] Não se recomenda a reutilização dos filmes finos, a fim de minimizar o desgaste dos mesmos e a ocorrência de contaminação cruzada. Uma aplicação do método do pó solto foi a análise de folhas de café para a determinação de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Ni e Zn por EDXRF.[139] Neste estudo, as amostras foram lavadas com água deionizada para a remoção de poeira, secas a 60 ºC, moídas em moinho com bolas e peneiradas através de malhas de 500 μm, sendo posteriormente armazenadas em dessecador. Para as análises por EDXRF, transferiu-se 1 g da amostra teste para porta-amostras com diâmetro interno de 20 mm, os quais foram selados com filmes de polipropileno de 6 μm de espessura. As amostras foram irradiadas durante 300 s, com diâmetro de focalização de 10 mm e utilizou-se um tubo de raios X com alvo de Rh com tensão de 15 kV (para detecção de elementos com números atômicos entre o Na e o Sc) e 50 kV (para detecção de elementos com números atômicos entre o Ti e o U). A corrente do tubo de raios X foi automaticamente ajustada (máximo de 1 mA). Correlacionaram-se as intensidades dos raios X característicos obtidas por EDXRF e as frações de massa dos analitos, determinadas por ICP OES, após digestão ácida em bloco digestor. Coeficientes de correlação linear apropriados (entre 0,8707 para Mg a 0,9945 para Mn) foram obtidos para todos os elementos. A exatidão do método foi avaliada pelo uso de 3 materiais de referência certificados, folhas de macieira (NIST SRM 1515), folhas de pessegueiro (NIST SRM 1547) e folhas de tomateiro (NIST SRM 1573a).

Apesar das vantagens do método do pó solto, de maneira geral, a reprodutibilidade nas condições de medida é superior quando se analisam amostras na forma de pastilhas prensadas. Para o preparo de pastilhas prensadas, acondiciona-se uma porção da amostra cominuída em um molde de aço inoxidável, o qual é colocado em uma prensa hidráulica. Para todas as amostras, deve-se uniformizar

a quantidade de material a ser prensado, assim como a pressão aplicada, pois estas variáveis afetam a densidade da amostra teste obtida e, por conseguinte, as intensidades de emissão de raios X característicos.[138] Para a análise quantitativa, a densidade das amostras usadas para calibração e validação, assim como os coeficientes de atenuação de massa (μ) e a distribuição do tamanho das partículas devem ser similares.[140] Em alguns casos, para a obtenção de pastilhas com adequada coesão das partículas, faz-se necessária a adição de um aglutinante. Os principais materiais utilizados são o ácido bórico, amido, celulose e cera, os quais devem apresentar elevada pureza, sendo comumente adicionados às amostras na fração correspondente entre 10 a 20 % em massa.[138]

Os métodos que envolvem o uso do pó solto ou da pastilha prensada não são recomendados para a análise de materiais em que não se consegue preparar padrões analíticos com matrizes similares às amostras teste. Isso ocorre notadamente para amostras de origem geológica, tais como solos, minerais, argilas e minérios. Nestes casos, deve-se preparar as amostras através do método de fusão,[140] que é detalhadamente descrito no Capítulo 7.

5.2.5.5. Determinação direta de mercúrio em amostras sólidas

Na determinação de mercúrio são observados, frequentemente, erros relacionados à contaminação e perdas por volatilização durante o preparo de amostras. Neste sentido, a análise direta de sólidos é uma alternativa que apresenta diversas vantagens em relação aos métodos convencionais de análise, especialmente na determinação de mercúrio em matrizes ambientais.

Em geral, os métodos para a determinação direta de mercúrio em amostras sólidas podem dispensar completamente o preparo de amostras (*e.g.* alimentos e cabelos) e se baseiam na decomposição térmica das amostras, durante a qual ocorre o aprisionamento seletivo de mercúrio por amalgamação com ouro; o mercúrio retido quantitativamente, independentemente da cinética de volatilização, é, então, dessorvido termicamente e detectado por espectrometria de absorção atômica. A amostra é analisada na ausência de reagentes, apenas com um fluxo de oxigênio, minimizando riscos de contaminação.

O método consiste em pesar a amostra (*e.g.* 10 a 500 mg) diretamente na plataforma de amostragem, que pode ser de quartzo ou níquel e introduzida no auto-

amostrador. Após uma etapa de secagem (*e.g.* 120 a 300 °C), a amostra é termicamente decomposta com temperaturas entre 700 e 1000 °C. O forno utiliza mecanismos de condução e convecção de calor para volatilizar componentes da amostra como água, dióxido de carbono, compostos orgânicos, óxidos, e gases elementares. Os produtos da decomposição são transportados por um fluxo de oxigênio para o compartimento catalítico do forno. Os vapores de mercúrio são concentrados por amalgamação (um sistema composto por fios ou partículas de ouro com área superficial capaz de reter o gás monoatômico Hg^0) e o fluxo de oxigênio transporta os vapores de mercúrio para as células posicionadas no percurso óptico de um espectrômetro de absorção atômica, onde a absorbância é medida em 253,7 nm.[141, 142]

A possibilidade de dispensar o preparo de amostras é a principal vantagem desse método, tornando a análise mais rápida (3 a 5 min/amostra). Em uma aplicação para a determinação de mercúrio em materiais de referência de solos e sedimentos,[143] as amostras foram pesadas em plataformas de quartzo de 500 μL, colocadas no autoamostrador e analisadas com as seguintes condições operacionais: i) secagem durante 60 s a 300 ºC; ii) decomposição por 120 s a 850 ºC e iii) tempo de espera de 45 s. O instrumento foi calibrado utilizando-se dois materiais de referência nas seguintes faixas de concentração: 0 a 50 ng e de 50 a 500 ng de Hg.

A Figura 5.7 mostra o esquema de um analisador direto de mercúrio desenvolvido pela Milestone (DMA-80). O sistema possui um forno programável para a secagem e pirólise da amostra acoplado a uma coluna contendo catalisador (para oxidar compostos orgânicos voláteis), uma unidade de amalgamação/dessorção térmica e um espectrômetro de absorção atômica. Pode-se observar que o caminho óptico da unidade de absorção atômica possui duas celas de medição (o conjunto é aquecido eletrotermicamente). A primeira cubeta, cujo caminho óptico é mais longo, é recomendada para amostras cujos teores de Hg são mais baixos, uma vez que permite a detecção de até 0,001 ng Hg. A segunda cubeta permite a medição de quantidades maiores, como, por exemplo, 30,000 ng Hg (equivalente a 300 mg kg^{-1} Hg para uma porção amostrada de 100 mg), uma vez que o caminho óptico é mais curto e a nuvem atômica está mais dispersa.[144] Este recurso pode ser considerado uma grande vantagem na análise direta de sólidos que apresentam altas concentrações de Hg, uma vez que a diluição dessas amostras pode ser bastante complexa.

Outra característica interessante desse sistema consiste na baixa dependência das propriedades físicas e químicas da matriz para a obtenção de resultados exa-

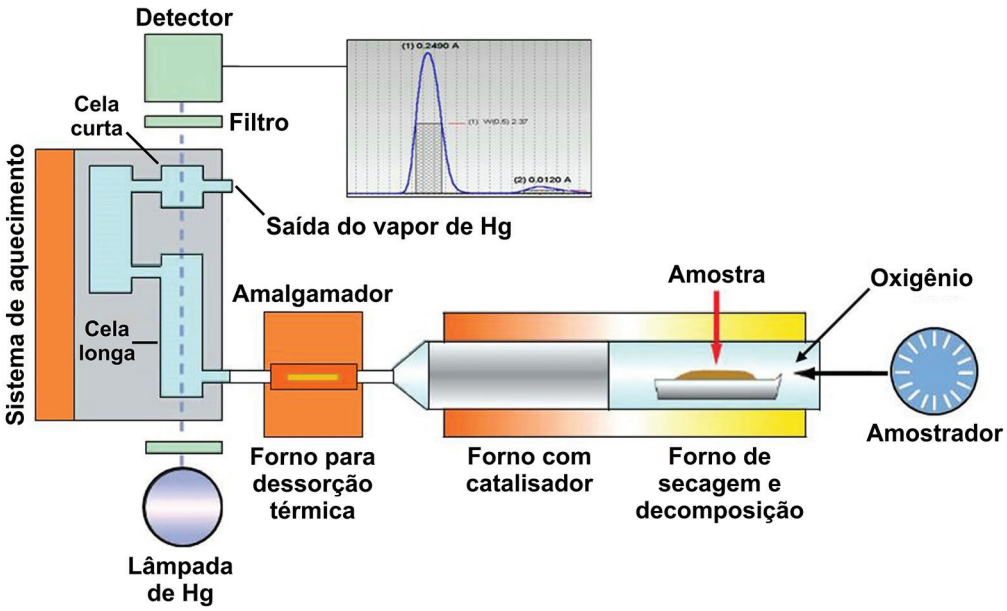

Figura 5.7. Analisador direto de mercúrio DMA-80, figura adaptada com permissão da Milestone Srl.

tos e precisos. Os dados mostrados na Tabela 5.3 mostram a qualidade dos resultados encontrados para um universo bastante heterogêneo de amostras (*e.g.* materiais biológicos, carvão, polietileno) com grande variabilidade nas frações de massa de Hg (*e.g.* 5 ng g^{-1} a 25 μg g^{-1}). No caso de amostras líquidas, como águas naturais e algumas bebidas, cujas concentrações de Hg são menores que o limite de detecção

Tabela 5.3. Determinação direta de Hg em materiais de referência certificados (CRM) com o DMA 80 (Milestone). Valores em ng g^{-1}. Dados compilados da referência 144.

CRM	Valores determinados por análise direta	Valores certificados
Farinha de arroz (NIST SRM 1568a)	5,9 ± 0,2	5,8 ± 0,5
Leite em pó (BCR 150)	9,2 ± 0,2	7,7 - 11,1
Carvão (NIST SRM 1630a)	93,4 ± 2,4	93,8 ± 3,7
Material particulado (NIST SRM 1633b)	149 ± 2	141 ± 19
Planta aquática (BCR 61)	221 ± 3	210 - 250
Sedimento (GSD 10)	270 ± 15	280 ± 40
Músculo de peixe (BCR 422)	558 ± 8	543 - 575
Cabelo (IAEA 086)	574 ± 12	543 - 612
Solo (NIST SRM 2711)	6240 ± 70	6250 ± 190
Polietileno (BCR 680)	25,8 ± 0,5*	24,3 - 26,3*

*dados em μg g^{-1}.

do método, pode-se submeter as amostras às etapas de secagem sequenciais intercaladas pela adição de novas alíquotas de amostras. Esta estratégia permite concentrar o analito na plataforma de amostragem, tornando possível determinar, em termos absolutos, massas menores que 0,001 ng Hg.

Cabe destacar que há vários métodos recomendados para a determinação direta de mercúrio total em carvão e seus resíduos de combustão (US EPA 7473[145] ASTM D-6722-01[146]), assim como em óleo cru (ASTM D-7623-10[147]), que se baseiam nos princípios do método aqui descrito.

Existem outros equipamentos disponíveis no mercado, como o AMA 254 Mercury Analyzer (LECO), o Hydra-C Mercury Analyzer (Teledyne Leeman Labs), o SMS 100 (Perkin Elmer) e o RA-915M (Lumex).

5.3. ANÁLISE DE SUSPENSÕES

O termo suspensão é usado para descrever um fluido heterogêneo contendo partículas dispersas com diâmetro maior que 1 μm.[148] A fase sólida é dispersa na fase fluida por agitação mecânica e a sedimentação das partículas geralmente ocorre quando o meio está em repouso e quando não são usados agentes estabilizantes. A análise de suspensões tem sido proposta como alternativa para os métodos de decomposição de amostras e determinação elementar por diferentes técnicas. As vantagens associadas à análise direta de suspensões incluem:

(i) diminuição do tempo de preparo das amostras;
(ii) menor consumo de ácidos concentrados;
(iii) menor possibilidade de perdas do analito pela formação de resíduos insolúveis ou espécies voláteis;
(iv) menores riscos de contaminação;
(v) facilidade para mecanização do procedimento de introdução da amostra, utilizando-se autoamostradores disponíveis em alguns equipamentos.

Entretanto, a amostragem de suspensões também apresenta algumas limitações, como:

(i) a falta de homogeneidade na distribuição dos analitos na amostra pode comprometer a representatividade da amostragem de alíquotas menores que 1 mg, principalmente nos casos de atomizadores ou vaporizadores eletrotérmicos;

(ii) dificuldade para encontrar materiais de referência adequados para a calibração, nos casos em que não é possível utilizar padrões aquosos;
(iii) aumento dos sinais de fundo, dependendo da técnica instrumental e das características da matriz;
(iv) dificuldade para obtenção de tamanhos de partículas diminutos (*e.g.* < 5 μm para introdução em ICPs);
(v) necessidade do uso de suspensões com maior razão massa/volume para a determinação de baixas concentrações do analito, o que pode: (a) diminuir a precisão das medidas devido a problemas de transporte da alíquota da suspensão; (b) potencializar os efeitos de matriz; (c) aumentar a formação de resíduos carbonáceos para amostras orgânicas e (d) diminuir a interação do analito com o modificador permanente em GFAAS;
(vi) diminuição da vida útil do atomizador quando comparada com a amostragem de soluções das amostras decompostas.

A objeção mais comumente ressaltada para amostragem de suspensões é a necessidade de obter partículas com tamanho diminuto. O tamanho das partículas do material sólido tem papel decisivo na estabilidade das suspensões durante a aspiração, transporte ou introdução da amostra, assim como na eficiência da atomização.[149] É desejável, na análise de suspensões por ICP OES, por exemplo, que as partículas sejam eficientemente transportadas através do sistema de introdução da amostra e que os processos de decomposição das partículas, assim como de atomização/excitação dos analitos sejam idênticos àqueles obtidos na análise de soluções.[150] Se esse critério for alcançado, possivelmente a curva de calibração poderá ser obtida com soluções aquosas.[151] Em geral, recomenda-se que as partículas sejam menores que 5 μm na análise de suspensões por ICP OES.[151] Para alcançar esses tamanhos de partículas, são utilizados métodos de moagem, os quais podem se estender de minutos a horas, dependendo das características das amostras. Para alguns tipos de moinho, o acréscimo no tempo de moagem pode aumentar consideravelmente os riscos de contaminação das amostras.[151]

Alguns autores sugerem que o tamanho de partículas não exceda 30 μm para a introdução de suspensões em GFAAS.[152] No entanto, Miller-Ihli[153] sugere que a análise direta de suspensões biológicas por essa técnica pode tolerar partículas com até 500 μm.

O melhor tamanho de partículas depende essencialmente da composição da amostra. Esse efeito é mais acentuado nos sistemas de atomização com chamas ou plasmas, quando comparados aos sistemas eletrotérmicos, devido às características dos sistemas de introdução das amostras. A análise de suspensões por GFAAS não sofre tão severamente a influência da distribuição do tamanho das partículas como nas técnicas com nebulização pneumática. Embora as partículas possam ter tamanhos variados, o que poderia afetar a eficiência de atomização, o uso de absorbância integrada com tempos de residência longos proporciona determinações precisas na análise de suspensões.[154] Provavelmente por essa razão, tem-se dado preferência aos sistemas eletrotérmicos na análise direta de suspensões. Contudo, deve-se recordar os problemas devidos à falta de homogeneidade na distribuição dos elementos químicos nas amostras, conforme discussão anterior, especialmente que a maioria dos CRMs apresenta homogeneidade atestada para massas maiores que 100 mg.[12] Dessa forma, as etapas de cominuição das amostras visam a alcançar distribuições granulométricas mais estreitas, assim como a representatividade de pequenas massas das alíquotas amostradas.

Considerando a falta de homogeneidade das amostras para massas menores que 1,0 mg, seria difícil compreender, por exemplo, o emprego com sucesso da amostragem de suspensões em GFAAS, uma vez que massas menores que 500 μg são introduzidas nos atomizadores. No entanto, uma fração significativa dos elementos determinados é parcialmente extraída para a fase líquida das suspensões (usualmente contendo ácidos diluídos) durante os procedimentos de agitação, aumentando consideravelmente a representatividade da porção amostrada.

De acordo com Miller-Ihli,[155] a amostragem de suspensões em GFAAS é apropriada para a caracterização da homogeneidade de materiais sólidos. Contudo, uma questão interessante, principalmente quando são feitos testes de micro-homogeneidade, é o quanto a alíquota introduzida no atomizador representa a massa utilizada para o preparo da suspensão. Em digestões ácidas completas, todo analito presente na amostra é transferido para a solução e a homogeneidade é atestada para toda a massa de amostra digerida. Em suspensões, a homogeneidade da amostra pode ser atestada para massas de microgramas ou miligramas, dependendo da eficiência de extração do analito para a fase líquida da suspensão. Caso não ocorra extração, a amostragem de suspensões é uma alternativa para avaliar a homogeneidade na ordem de microgramas, visto que a determinação do analito refere-se

apenas à massa de amostra introduzida no atomizador (*e.g.* 200 μg são introduzidos no forno de grafite quando uma alíquota de 20 μL de uma suspensão 1% (m/v) é amostrada). Porém, a ausência de extração representa uma situação pouco realista, uma vez que ao menos a fração do analito adsorvido na superfície das partículas pode ser extraída para solução. Para extrações quantitativas, a homogeneidade do material é atestada para a massa utilizada no preparo da suspensão; entre 10 e 30 mg, quando preparadas diretamente no copo do autoamostrador, ou entre 100 e 1000 mg, quando preparadas em balões volumétricos.

Considerando-se que a fração extraída para a fase líquida seja equivalente na amostra, a massa representada pela alíquota da suspensão (M_a, mg) pode ser calculada de acordo com a equação 5, proposta por Miller-Ihli:[156]

$$M_a = V_s(M_s/V_0)(1 - f_x) + (f_x M_s) \quad (5)$$

Onde, V_s é o volume da alíquota da suspensão (μL) depositado no atomizador, M_s é a massa utilizada para preparar a suspensão (mg), V_0 é o volume final da suspensão (μL) e f_x é a fração do analito extraído para a fase líquida. Por exemplo, para a amostragem de 20 μL de uma suspensão preparada com 500 mg da amostra e 50 mL da fase líquida, a homogeneidade na ausência de extração seria avaliada para os 200 μg introduzidos no atomizador. Para extrações de 20%, e desprezando-se as incertezas de amostragem, a homogeneidade seria avaliada para aproximadamente 100 mg da amostra utilizada no preparo da suspensão. Vale ressaltar que, na maioria dos métodos propostos na literatura, as frações dos analitos extraídos para a fase líquida não são avaliadas, o que seria possível pela determinação dos analitos apenas no sobrenadante das suspensões. Essas informações sobre as extrações seriam interessantes para uma avaliação prévia da homogeneidade das amostras e caracterização do método analítico.

Bendicho e Loos-Vollebregt[157] concluíram que a amostragem de suspensões proporciona melhor desempenho analítico quando comparada à amostragem direta de sólidos. Entre as vantagens da amostragem de suspensões foram destacadas a facilidade para efetuar mudanças de concentrações, e a facilidade para mecanização do procedimento de introdução da amostra, utilizando-se o próprio autoamostrador do aparelho. Desta forma, a amostragem de suspensões agrega benefícios da amostragem de sólidos e líquidos.

5.3.1. Preparo das suspensões

Recomenda-se agitar mecanicamente as suspensões imediatamente antes de introduzi-las no atomizador, para assegurar que uma alíquota representativa da amostra seja medida. Entretanto, para suspensões aquosas, o material sólido é facilmente sedimentado. A velocidade de sedimentação depende da viscosidade e da densidade do diluente, assim como do tamanho e da densidade das partículas.[149,157]

Quando agentes tixotrópicos, como Viscalex® [158] e glicerol,[153] foram avaliados para estabilizar suspensões, foi observada baixa repetibilidade, devido à aderência das partículas nas paredes do tubo capilar de amostragem. Triton X-100 também é frequentemente usado, mas sua capacidade de estabilização de suspensões também depende fortemente das características da amostra e das propriedades das partículas. Em geral, melhores resultados foram obtidos por agitação durante a etapa de amostragem das suspensões.[154] Neste sentido, destaca-se a agitação ultrassônica, que também proporciona a extração parcial ou total de muitos analitos da fase sólida para a fase líquida.[149] Esse processo é abordado no Capítulo 6. Em 1989 foi proposto um acessório mecanizado de agitação ultrassônica de suspensões para GFAAS, o qual resultou em várias aplicações bem sucedidas.[159]

Embora as pesquisas indiquem a eficácia da amostragem de suspensões em GFAAS e em outras técnicas analíticas, são necessários estudos para otimização do preparo de amostras para diferentes matrizes. Os fatores mais relevantes são a densidade do material sólido, o tempo de agitação da suspensão, a relação massa de amostra/volume de diluente, a distribuição do tamanho das partículas e a distribuição do analito nas partículas.[12, 154, 155, 160]

A densidade e o tamanho da partícula podem ser utilizados para determinar o número de partículas inseridas no tubo de grafite. Segundo Miller-Ihli,[156] para materiais com densidade de 1 g cm^{-3} e tamanho de partícula até 250 μm, 20 mg da amostra são suficientes para preparar 1 mL de suspensão e assegurar um mínimo de 50 partículas em 20 μL, enquanto para partículas com tamanhos de 500 μm são necessários 163 mg de amostra. A densidade também deve ser considerada quando for estabelecida a máxima razão massa/volume da suspensão a ser preparada. Essa razão não deve prejudicar a eficiência do autoamostrador, semelhante ao que se observa com suspensões viscosas.[154, 156]

Fagioli e Landi[161] foram os precursores da utilização da oxidação parcial por via úmida para materiais biológicos e subsequente análise da suspensão carbonácea formada. Embora esses procedimentos proporcionem apenas a decomposição parcial da matriz, os autores concluíram que poderiam ser aplicados para todos os tipos de materiais biológicos.

Hoenig e Kersabiec[162] descreveram algumas limitações dos procedimentos de calcinação usados no preparo de suspensões, como a volatilização de alguns analitos e a insolubilidade do material calcinado. O preparo de suspensões carbonáceas geralmente envolve aquecimento da amostra em ácido sulfúrico concentrado e diluição da suspensão resultante em água. Devido às perdas por volatilização, os procedimentos de calcinação em cadinhos são aplicáveis apenas quando se visa à determinação de elementos metálicos, visto que a maioria dos não metais é oxidada a produtos voláteis. Um elemento é mais propenso às perdas por volatilização se determinadas espécies estiverem presentes na matriz. O íon cloreto, por exemplo, pode reagir com metais produzindo cloretos voláteis; assim, chumbo e cádmio são facilmente perdidos na forma de $PbCl_2$ e $CdCl_2$. Além disso, outra fonte de erros consiste na possibilidade de reação entre alguns componentes da amostra e o material do cadinho. A extensão da perda depende da temperatura, do material do cadinho e da composição da amostra. Se o cadinho for de porcelana ou sílica, o elemento pode reagir e ficar aderido às paredes, sendo perdido nesse tipo de pré-tratamento. Mais informações sobre decomposição de materiais orgânicos por combustão serão abordadas no Capítulo 11.

O preparo de suspensões de alimentos contendo água e alto teor de fibras parece ser rápido e apropriado para elementos de fácil extração. Contudo, esses procedimentos não são apropriados para alimentos com alto teor de gorduras, as quais dificultam ou impossibilitam uma efetiva redução do tamanho das partículas.

Viñas *et al.*[163] propuseram um procedimento para o preparo de suspensões para a determinação de Ca, Fe, Mg e Zn em farinhas. Após um período de 30 min em moinho com bolas, apenas 52% das partículas tinham tamanhos menores que 30 μm. Os valores de concentrações dos analitos determinados foram concordantes com os obtidos após dissolução ácida da amostra. Os autores enfatizaram que o procedimento proposto não tinha aplicação geral e que o sucesso obtido foi devido às características físicas do material em suspensão.

Krug e colaboradores determinaram Se e Cd em suspensões de amostras de peixes.[164, 165] Para a determinação de Se,[165] as amostras foram congeladas e liofiliza-

das antes de serem moídas em um almofariz e peneiradas para obtenção de partículas com diâmetros em torno de 53 μm. Para a determinação de Cd,[164] as amostras liofilizadas foram moídas em um moinho com bolas, obtendo-se partículas com diâmetros inferiores a 30 μm. Nesses trabalhos, observou-se que o procedimento para o preparo das suspensões é moroso devido ao alto teor de água nas amostras.

Em geral, os procedimentos de moagem convencional são apropriados para o preparo de suspensões de amostras de alimentos que estejam na forma de pó ou que tenham sido secas antes da moagem, mas não são eficazes para alimentos com elevados teores de água, fibras e gorduras. Para essas matrizes é mais indicada a moagem criogênica, abordada com mais detalhes no Capítulo 4.

Santos *et al.*[166] avaliaram diferentes procedimentos de preparo de suspensões para a determinação de As em arroz por espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG-AFS). Os melhores resultados foram obtidos quando as amostras foram preparadas por sonicação de 200 mg de arroz moído (partículas < 300 μm) em 5 mL de solução 2,0 mol L^{-1} HNO_3. As suspensões foram diluídas a 25 mL com água deionizada e posteriormente alíquotas das suspensões foram tratadas com 6,0 mol L^{-1} HCl e solução 10 % (m/v) KI em meio de 2 % (m/v) de ácido ascórbico para reduzir As(V) a As(III) antes das determinações por HG-AFS. O preparo da amostra para análise de especiação de As usualmente constitui a etapa mais dispendiosa da sequência analítica. A análise de suspensões pode simplificar o procedimento e minimizar alguns inconvenientes relacionados à digestão ácida.[167]

A análise de suspensões também se destaca como uma alternativa viável frente aos diferentes métodos de preparo de amostras para análise de especiação química de elementos voláteis.[168] Reyes e colaboradores[169] determinaram as concentrações de Sb(III), Sb(V), Se(IV), Se(VI), Te(IV), Te(VI) e Bi(III) em suspensões de amostras de alho empregando HG-AFS. As suspensões foram preparadas a partir da sonicação das amostras com 1 mol L^{-1} H_2SO_4 e o resíduo sólido lavado com solução 0,1% (m/v) EDTA. Após centrifugação, a concentração dos analitos foi determinada no sobrenadante por HG-AFS.

A análise de suspensões tem sido amplamente utilizada no preparo das amostras para a determinação de Hg total e/ou suas espécies por diferentes técnicas espectroanalíticas.[170] Na maioria dos casos, as suspensões são preparadas com soluções de ácidos diluídos, em temperatura ambiente ou, eventualmente, em temperaturas em que possíveis perdas por volatilização sejam desprezíveis. Nesse sentido,

Carvalho *et al.*[171] propuseram um método para análise de especiação de Hg em amostras de peixes empregando análises em fluxo com geração de vapor a frio e AFS (FI-CV-AFS). As amostras foram preparadas na forma de suspensão com agitação ultrassônica de 50 mg de tecido muscular de peixes e 4 mL de solução 25 % (m/v) de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) em temperatura ambiente. Cabe destacar que o TMAH tem sido amplamente empregado no preparo de suspensões de materiais biológicos, principalmente para a análise de especiação de elementos como Hg, As e Sb. Silva *et al.*[172] propuseram um método para a determinação de Hg em suspensões de amostras de arroz empregando-se CVAAS. As amostras (0,2 g) foram aquecidas com 10 mL de água a 60 °C por 20 min em frascos fechados. Posteriormente, as suspensões foram sonicadas em meio de 6 mol L^{-1} HCl e tioureia. Sob essas condições, Hg foi quantitativamente extraído para a fase líquida da suspensão, a qual foi analisada por CVAAS. Outras aplicações, assim como vantagens e limitações da análise de suspensões por técnicas espectroanalíticas estão descritas com mais detalhes em artigos de revisão.[173, 174]

A análise de suspensões também tem sido amplamente explorada na determinação de elementos em diferentes matrizes por espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF). A TXRF apresenta a possibilidade de analisar menor quantidade de amostra em camadas ultrafinas, efeito de matriz desprezível e melhores limites de detecção quando comparada à análise direta de sólidos por espectrometria de fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF).

A análise de suspensões foi bastante utilizada no início do desenvolvimento da TXRF e representa aproximadamente 15% das aplicações na análise de materiais biológicos, alimentos, amostras farmacêuticas, solos, rochas, amostras arqueológicas, compostos sintéticos, carbetos e nitritos por TXRF.[175] As amostras são preparadas geralmente dispersando de 5 a 100 mg de material pulverizado em água ou solução de HNO_3 diluído, contendo padrão interno e um agente estabilizador (*e.g.* Triton X-100, álcool polivinílico ou polietilenoamina). Após agitação, uma alíquota de alguns microlitros da suspensão (5 a 50 μL) é depositada sobre o suporte de amostras e submetida à secagem. É importante destacar que a camada de amostra deve apresentar espessura menor que 500 μm. Erros associados à sedimentação devem ser cuidadosamente considerados para se obter uma amostragem representativa; esses podem ser minimizados empregando-se procedimentos de agitação manual, magnética, vórtex ou ultrassônica.[175]

A distribuição do tamanho das partículas é muito importante no preparo das suspensões em TXRF e, analogamente ao que foi discutido para GFAAS, afeta diretamente a precisão e exatidão das medidas. É desejável o uso de amostras finamente cominuídas para se obter resultados confiáveis e reprodutíveis. Além de estabilizar as suspensões, agentes surfactantes proporcionam camadas reprodutíveis de amostras sobre o suporte após a secagem.[176]

A intensidade da radiação de fundo (*background*) na análise de suspensões por TXRF é geralmente maior que a observada na análise de amostras digeridas. Este efeito ocorre, principalmente, pelo possível espalhamento provocado por algumas partículas depositadas sobre o suporte da amostra e pela camada menos homogênea obtida após a secagem da suspensão. Diferentes aplicações de análises de suspensões por TXRF podem ser encontradas em artigo de revisão.[175]

REFERÊNCIAS

1. ŠULCEK, Z.; POVONDRA, P. **Methods of decomposition in inorganic analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 325 p.
2. JACKSON, K. W. **Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry**. New York: John Willey, 1999. 484 p.
3. KURFÜRST, U. **Solid Sample Analysis**. Berlin: Springer-Verlag, 1998. 423 p.
4. BODE, P.; FERNANDES, E. A. D.; GREENBERG, R. R. Metrology for chemical measurements and the position of INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, 245, 109-114, 2000.
5. PASQUINI, C.; CORTEZ, J.; SILVA, L. M. C.; GONZAGA, F. B. Laser induced breakdown spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 18, 463-512, 2007.
6. CREMERS, D. A.; RADZIEMSKI, L. J. **Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2006. 313 p.
7. STOEPPLER, M.; WOLF, W. R.; JENKS, P. J. **Reference Materials for Chemical Analysis. Certification, availability and proper usage**. Weinhein: Wiley-VCH, 2001. 322 p.
8. GRANT, R.; C, G. **Grant and Hackh's Chemical Dictionary**. Texas: McGraw-Hill, 1987. 641 p.
9. ZEISLER, R. Reference materials for small-sample analysis. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 360, 376-379, 1998.

10. PAUWELS, J.; HOFMANN, C.; VANDECASTEELE, C. On the Usefulness of Ss-ZAAS for the Microhomogeneity Control of CRMs. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 348, 418-421, 1994.

11. NOMURA, C. S.; SILVA, C. S. D.; OLIVEIRA, P. V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Quimica Nova**, 31, 104-113, 2008.

12. ROSSBACH, M.; OSTAPCZUK, P.; EMONS, H. Microhomogeneity of candidate reference materials: Comparison of solid sampling Zeeman-AAS with INAA. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 360, 380-383, 1998.

13. KURFURST, U. Potential Relevance of Imprecise Data from Solid Sample Analysis with Graphite-Furnace AAS. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 346, 556-559, 1993.

14. ISO Guia 35, Certification of Reference Materials General and Statistical Principles. Geneva: ISO, 1989.

15. INGAMELLS, C. O.; SWITZER, P. A proposed sampling constant for use in geochemical analysis. **Talanta**, 20, 547-568, 1973.

16. KURFÜRST, U.; PAUWELS, J.; GROBECKER, K.-H.; STOEPPLER, M.; MUNTAU, H. Micro-heterogeneity of trace elements in reference materials — determination and statistical evaluation. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 345, 112-120, 1993.

17. PAUWELS, J.; HOFMANN, C.; GROBECKER, K. H. Homogeneity determination of Cd in plastic CRMs using solid sampling atomic absorption spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 345, 475-477, 1993.

18. LANGMYHR, F. J. The solid sampling technique of atomic absorption spectrophotometry — What can the method do? **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 322, 654-656, 1985.

19. BELARRA, M. A.; CRESPO, C.; MARTÍNEZ-GARBAYO, M. P.; CASTILLO, J. R. Direct determination of metals in solid samples by graphite-furnace atomic absorption spectrometry: Does sample mass influence the analytical results? **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 52, 1855-1860, 1997.

20. NAKAMURA, T.; OKA, H.; MORIKAWA, H.; SATO, J. Determination of Lithium, Beryllium, Cobalt, Nickel, Copper, Rubidium, Cesium, Lead and Bismuth in Silicate Rocks by Direct Atomization Atomic-Absorption Spectrometry. **Analyst**, 117, 131-135, 1992.

21. HINDS, M. W.; KOGAN, V. V. Determination of Silicon in Fine Gold by Solution and Solid Sample Graphite-Furnace Atomic-Absorption Spectrometry and Inductively-Coupled Plasma-Atomic Emission-Spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 9, 451-455, 1994.

22. FULLER, C. W.; HUTTON, R. C.; PRESTON, B. Comparison of Flame, Electrothermal and Inductively Coupled Plasma Atomization Techniques for the Direct Analysis of Slurries. **Analyst**, 106, 913-920, 1981.

23. SURYANARAYANA, C. Mechanical alloying and milling. **Progress in Materials Science**, 46, 1-184, 2001.

24. WISE, S. A.; WATTERS, R. L. Standard Reference Material 2703 - Sediment for solid sampling (small sample) analytical techniques, Certificate of Analysis, NIST: Washington, 2004.

25. GONZALES, C. A.; WATTERS, R. L. Standard Reference Material 1648a - Urban Particulate Matter, Certificate of Analysis, NIST: Washington, 2015.

26. GODOI, Q.; SANTOS JR, D.; NUNES, L. C.; LEME, F. O.; RUFINI, I. A.; AGNELLI, J. A. M.; TREVIZAN, L. C.; KRUG, F. J. Preliminary studies of laser-induced breakdown spectrometry for the determination of Ba, Cd, Cr and Pb in toys. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 64, 573-581, 2009.

27. CARVALHO, G. G. A.; NUNES, L. C.; DE SOUZA, P. F.; KRUG, F. J.; ALEGRE, T. C.; SANTOS JR, D. Evaluation of laser induced breakdown spectrometry for the determination of macro and micronutrients in pharmaceutical tablets. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 25, 803-809, 2010.

28. CHEN, Z.; LI, H.; LIU, M.; LI, R. Fast and sensitive trace metal analysis in aqueous solutions by laser-induced breakdown spectroscopy using wood slice substrates. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 63, 64-68, 2008.

29. TREVIZAN, L. C.; SANTOS JR, D.; SAMAD, R. E.; VIEIRA JR, N. D.; NOMURA, C. S.; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; KRUG, F. J. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of macronutrients in plant materials. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, 63, 1151-1158, 2008.

30. NOMURA, C. S.; INTIMA, D. P.; OLIVEIRA, P. V.; RUFFINI, I. A.; KRUG, F. J. Feasibility of using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry for preparation of spiked filter papers with Cu and Zn as standards for direct solid analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 391, 1135-1137, 2008.

31. SILVESTRE, D. M.; BARBOSA, F. M.; AGUIAR, B. T.; LEME, F. O.; NOMURA, C. S. Feasibility study of calibration strategy for direct quantitative measurement of K and Mg in plant material by laser-induced breakdown spectrometry. **Analytical Chemistry Research**, 5, 28-33, 2015.

32. CARVALHO, G. G. A.; SANTOS JR, D.; GOMES, M. D.; NUNES, L. C.; GUERRA, M. B. B.; KRUG, F. J. Influence of particle size distribution on the analysis of pellets of plant materials by laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 105, 130-135, 2015.

33. CAL-PRIETO, M. J.; FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE, J. M.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI, S.; PRADA, D. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta**, 56, 1-51, 2002.

34. MONTASSER, A.; GOLIGHTLY, D. W. **Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry**. New York: Verlag Chemie, 1992. 1040 p.

35. RUSSO, R. E.; MAO, X. L.; LIU, H. C.; GONZALEZ, J.; MAO, S. S. Laser ablation in analytical chemistry - a review. **Talanta**, 57, 425-451, 2002.

36. BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A.; BERMEJO-BARRERA, A. M. Application of multivariate methods to scalp hair metal data to distinguish between drug-free subjects and drug abusers. **Analytica Chimica Acta**, 455, 253-265, 2002.

37. SILVA, C. S.; BLANCO, T.; NÓBREGA, J. A. Analysis of cement slurries by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 57, 29-33, 2002.

38. GUNTHER, D.; HATTENDORF, B. Solid sample analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, 24, 255-265, 2005.

39. FLORES, E. M. M.; DA COSTA, A. B.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L.; PANIZ, J. N. G.; MARTINS, A. F. Direct flame solid sampling for atomic absorption spectrometry: determination of copper in bovine liver. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 56, 1875-1882, 2001.

40. FLORES, E. M. M.; PANIZ, J. N. G.; MARTINS, A. F.; DRESSLER, V. L.; MÜLLER, E. I.; DA COSTA, A. B. Cadmium determination in biological samples by direct solid sampling flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 57, 2187-2193, 2002.

41. FLORES, E. M. M.; PANIZ, J. N. G.; SAIDELLES, A. P. F.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L.; MÜLLER, E. I.; COSTA, A. B. Direct solid sampling by flame atomic absorption spectrometry: Determination of manganese in coal samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 15, 199-204, 2004.

42. VALE, M. G. R.; OLESZCZUK, N.; DOS SANTOS, W. N. L. Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry - A critical review of the development between 1995 and 2005. **Applied Spectroscopy Reviews**, 41, 377-400, 2006.

43. L'VOV, B. V. Trace characterization of powders by atomic-absorption spectrometry. **Talanta**, 23, 109-118, 1976.

44. L'VOV, B. V. 25 Years of Furnace Atomic-Absorption Spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 39, 149-157, 1984.

45. L'VOV, B. V. The Investigation of Atomic-Absorption Spectra by Complete Vaporization of the Sample in a Graphite Cuvette. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 39, 159-166, 1984.

46. MASSMANN, H. Vergleich von atomabsorption und atomfluoreszenz in der graphitküvette. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 23, 215-226, 1968.

47. WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. Germany: Wiley-VCH Verlag, 1999. 944 p.

48. WELZ, B.; VALE, M. G. R.; PEREIRA, E. R.; CASTILHO, I. N. B.; DESSUY, M. B. Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry: Past, Present and Future Aspects - A Critical Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 25, 799-821, 2014.

49. WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; VALE, M. G. R. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry - What can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 14, 220-229, 2003.

50. FRIESE, K. C.; KRIVAN, V. A solid-sampling system for a transversely heated graphite furnace and its application to trace element analysis of high-purity tantalum powders by atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 53, 1069-1078, 1998.

51. BENDICHO, C.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. The Influence of Pyrolysis and Matrix Modifiers for Analysis of Glass Materials by GFAAS Using Slurry Sample Introduction. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 45, 679-693, 1990.

52. TAKADA, K.; HIROKAWA, K. Atomization and Determination of Traces of Copper, Manganese, Silver and Lead in Microamounts of Steel - Atomic-Absorption Spectrometry Using Direct Atomization of Solid Sample in a Graphite-Cup Cuvette. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 312, 109-113, 1982.

53. INTIMA, D. P.; DE OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, P. V. Feasibility of using in situ fusion for the determination of Co, Cr and Mn in Portland cement by direct solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 64, 610-614, 2009.

54. SCHÄFFER, U.; KRIVAN, V. Analysis of high purity graphite and silicon carbide by direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 371, 859-866, 2001.

55. HORNUNG, M.; KRIVAN, V. Solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry for analysis of high-purity tungsten trioxide and high-purity tungsten blue oxide. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 54, 1177-1191, 1999.

56. KRIVAN, V.; JANICKOVA, P. A direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometric method for determination of trace elements in zirconium dioxide. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 382, 1949-1957, 2005.

57. MELLO, P. A.; RODRIGUES, L. F.; NUNES, M. A. G.; MATTOS, J. C. P.; MÜLLER, E. I.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Determination of metal impurities in carbon nanotubes by direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 22, 1040-1049, 2011.

58. RODRIGUES, L. F.; MATTOS, J. C. P.; BOLZAN, R. C.; FLORES, E. M. M.; DUARTE, F. A. Determination of trace elements in raw material for polyurethane production using direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 324-331, 2014.

59. SOUZA, A. L.; OLIVEIRA, P. V. Simultaneous determination of chromium and manganese in alumina by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using NbC and NaF as modifiers. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 25, 675-680, 2010.

60. SOUZA, A. L.; FERREIRA DA SILVA, F.; KELMER, G. A. R.; OLIVEIRA, P. V. A green method for the simultaneous determination of Cd and Pb in soil and sediment by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, 5, 2059-2063, 2013.

61. HUANG, M. D.; KRIVAN, V. Direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry for the analysis of high-purity niobium pentaoxide. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 368, 227-234, 2000.

62. LUCIC, M.; KRIVAN, V. Solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry for analysis of aluminium oxide powders. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 1133-1139, 1998.

63. DONG, H. M.; KRIVAN, V. Direct solid-sampling electrothermal atomic absorption spectrometry methods for the determination of silicon in oxides of niobium, titanium and zirconium. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 56, 1645-1656, 2001.

64. HERBER, R. F. M.; ROELOFSEN, A. M.; ROELFZEMA, W. H.; PEEREBOOMSTEGEMAN, J. H. J. C. Direct Determination of Cadmium in Placenta - Comparison with a Destruction Atomic-Absorption Spectrometric Method. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 322, 743-746, 1985.

65. NORDAHL, K.; RADZIUK, B.; THOMASSEN, Y.; WEBERG, R. Determination of Aluminum in Human Biopsy and Necropsy Specimens by Direct Solid Sampling Cup-in-Tube Electrothermal Atomic-Absorption Spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 337, 310-315, 1990.

66. LICHTENBERG, W. Determination of Gunshot Residues (GSR) in biological samples by means of Zeeman atomic-absorption spectrometry. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 328, 367-369, 1987.

67. LÜCKER, E. Direct solid sampling ETAAS determination of lead in muscle tissue contaminated by gun-shot residues. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 14, 1731-1735, 1999.

68. HAHN, E.; HAHN, K.; MOHL, C.; STOEPPLER, M. Zeeman SS-GFAAS - an ideal method for the evaluation of lead and cadmium profiles in birds feathers. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 337, 306-309, 1990.

69. SACHS, H. History of hair analysis. **Forensic Science International**, 84, 7-16, 1997.

70. NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Method for cadmium and lead longitudinal profiles determination in hair by solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Methods**, 2, 49-53, 2010.

71. POZEBON, D.; DRESSLER, V. L.; CURTIUS, A. J. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. **Quimica Nova**, 22, 838-846, 1999.

72. CHATT, A.; KATZ, S. A. **Hair Analysis, Applications in the Biomedical and Environmental Sciences**. New York: VCH Publishers, 1988. 114 p.

73. PEREIRA, R.; RIBEIRO, R.; GONÇALVES, F. Scalp hair analysis as a tool in assessing human exposure to heavy metals (S. Domingos mine, Portugal). **Science of the Total Environment**, 327, 81-92, 2004.

74. CARNEIRO, M. T. W. D.; SILVEIRA, C. L. P. D.; MIEKELEY, N.; FORTES, L. M. D. C. Intervalos de referência para elementos menores e traço em cabelo humano para a população da cidade do Rio de Janeiro - Brasil. **Quimica Nova**, 25, 37-45, 2002.

75. SENOFONTE, O.; VIOLANTE, N.; D'ILIO, S.; CAIMI, S.; PERI, A.; CAROLI, S. Hair analysis and the early detection of imbalances in trace elements for members of expeditions in Antarctica. **Microchemical Journal**, 69, 231-238, 2001.

76. MORRISSETTE, J.; TAKSER, L.; ST-AMOUR, G.; SMARGIASSI, A.; LAFOND, J.; MERGLER, D. Temporal variation of blood and hair mercury levels in pregnancy in relation to fish consumption history in a population living along the St. Lawrence River. **Environmental Research**, 95, 363-374, 2004.

77. DANIEL, C. R.; PIRACCINI, B. M.; TOSTI, A. The nail and hair in forensic science. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 50, 258-261, 2004.

78. ZSCHUNKE, A. **Reference materials in analytical chemistry. A guide for selection and use**. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2000. 224 p.

79. VENELINOV, T.; QUEVAUVILLER, P. Are certified reference materials really expensive? **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, 22, 15-18, 2003.

80. PAUWELS, J.; KRAMER, G. N.; DEANGELIS, L.; GROBECKER, K. H. The Preparation of Codfish Candidate Reference Material to Be Certified for Pb, Cd, Hg, Fe, and Zn. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 338, 515-519, 1990.

81. CARIONI, V. M. O.; CHELEGÃO, R.; NAOZUKA, J.; NOMURA, C. S. Feasibility study for the preparation of a tuna fish candidate reference material for total As determination. **Accreditation and Quality Assurance**, 16, 453-458, 2011.

82. LÜCKER, E.; ROSOPULO, A.; KREUZER, W. Analytical quality-control by solid sampling GFAAS in the production of animal tissue reference materials - lead and cadmium in bovine liver reference materials. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 340, 234-241, 1991.

83. PAUWELS, J.; DE ANGELIS, L.; GROBECKER, K. H. Solid Sampling Zeeman Atomic Absorption Spectrometry in Production and Use of Certified Reference Materials. **Pure and Applied Chemistry**, 63, 1199-1204, 1991.

84. PAUWELS, J.; KURFÜRST, U.; GROBECKER, K. H.; QUEVAUVILLER, P. Microhomogeneity Study of BCR Candidate Reference Material CRM-422 - Cod Muscle. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 345, 478-481, 1993.

85. NOMURA, C. S.; SILVA, C. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; OLIVEIRA, P. V. Bovine liver sample preparation and micro-homogeneity study for Cu and Zn determination by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 60, 673-680, 2005.

86. NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Preparação de amostra de fígado bovino e estudo de micro homogeneidade para a determinação de Cd e Pb por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e amostragem direta de sólido. **Quimica Nova**, 29, 234-239, 2006.

87. MOHL, C.; GROBECKER, K. H.; STOEPPLER, M. Homogeneity Studies in Reference Materials with Zeeman Solid Sampling GFAAS. **Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie**, 328, 413-418, 1987.

88. BAGSCHIK, U.; QUACK, D.; STOEPPLER, M. Homogeneity Studies in a Variety of Reference Materials Using Solid Sampling Zeeman Graphite-Furnace AAS. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 338, 386-389, 1990.

89. MONTASER, A. **Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**. New York: Wiley-VCH, 1998. 964 p.

90. RESANO, M.; VANHAECKE, F.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Electrothermal vaporization for sample introduction in atomic absorption, atomic emission and plasma mass spectrometry-a critical review with focus on solid sampling and slurry analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 23, 1450-1475, 2008.

91. GÜNTHER, D.; HATTENDORF, B. Solid sample analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, 24, 255-265, 2005.

92. PISONERO, J.; GÜNTHER, D. Femtosecond Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Fundamentals and Capabilities for Depth Profiling Analysis. **Mass Spectrometry Reviews**, 27, 609-623, 2008.

93. BECKER, J. S.; SALBER, D. New mass spectrometric tools in brain research. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, 29, 966-979, 2010.

94. ORELLANA, F. A.; GÁLVEZ, C. G.; ROLDÁN, M. T.; GARCÍA-RUIZ, C. Applications of laser-ablation-inductively-coupled plasma-mass spectrometry in chemical analysis of forensic evidence. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, 42, 1-34, 2013.

95. FERNANDÉZ, B.; CLAVERIE, F.; PÉCHEYRAN, C.; DONARD, O. F. X. Direct analysis of solid samples by fs-LA-ICP-MS. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, 26, 951-966, 2007.

96. BECKER, J. S. **Inorganic Mass Spectrometry, Principles and Applications**. Chichester: John Wiley & Sons, 2007. 514 p.

97. CREMERS, D. A.; CHINNI, R. C. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy-Capabilities and Limitations. **Applied Spectroscopy Reviews**, 44, 457-506, 2009.

98. CREMERS, D. A.; RADZIEMSKI, L. J. **Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy**. second. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2013. 418 p.

99. BAUDELET, M.; SMITH, B. W. The first years of laser-induced breakdown spectroscopy. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 28, 624-629, 2013.

100. MAIMAN, T. H. Stimulated Optical Radiation in Ruby. **Nature**, 187, 493-494, 1960.

101. BRECH, F.; CROSS, L. Optical microemission stimulated by a ruby laser. **Applied Spectroscopy**, 16, 59, 1962.

102. WINEFORDNER, J. D.; GORNUSHKIN, I. B.; CORRELL, T.; GIBB, E.; SMITH, B. W.; OMENETTO, N. Comparing several atomic spectrometric methods to the super stars: special emphasis on laser induced breakdown spectrometry, LIBS, a future super star. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 19, 1061-1083, 2004.

103. RADZIEMSKI, L.; CREMERS, D. A brief history of laser-induced breakdown spectroscopy: From the concept of atoms to LIBS 2012. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 87, 3-10, 2013.

104. NEGRE, E.; MOTTO-ROS, V.; PELASCINI, F.; LAUPER, S.; DENIS, D.; YU, J. On the performance of laser-induced breakdown spectroscopy for quantitative analysis of minor and trace elements in glass. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 417-425, 2015.

105. CANEVE, L.; COLAO, F.; FANTONI, R.; SPIZZICHINO, V. Laser ablation of copper based alloys by single and double pulse laser induced breakdown spectroscopy. **Applied Physics a-Materials Science & Processing**, 85, 151-157, 2006.

106. LEME, F. O.; GODOI, Q.; KIYATAKA, P. H. M.; SANTOS, D.; AGNELLI, J. A. M.; KRUG, F. J. Effect of pulse repetition rate and number of pulses in the analysis of polypropylene and high density polyethylene by nanosecond infrared laser induced breakdown spectroscopy. **Applied Surface Science**, 258, 3598-3603, 2012.

107. SUN, Q.; TRAN, M.; SMITH, B. W.; WINEFORDNER, J. D. Direct determination of P, Al, Ca, Cu, Mn, Zn, Mg and Fe in plant materials by laser-induced plasma spectroscopy. **Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy**, 44, 164-170, 1999.

108. JANTZI, S. C.; ALMIRALL, J. R. Elemental Analysis of Soils Using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) and Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) with Multivariate Discrimination: Tape Mounting as an Alternative to Pellets for Small Forensic Transfer Specimens. **Applied Spectroscopy**, 68, 963-974, 2014.

109. GOMES, M. D.; SANTOS, D.; NUNES, L. C.; DE CARVALHO, G. G. A.; LEME, F. D.; KRUG, F. J. Evaluation of grinding methods for pellets preparation aiming at the analysis of plant materials by laser induced breakdown spectrometry. **Talanta**, 85, 1744-1750, 2011.

110. JANTZI, S. C.; MOTTO-ROS, V.; TRICHARD, F.; MARKUSHIN, Y.; MELIKECHI, N.; DE GIACOMO, A. Sample treatment and preparation for laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 115, 52-63, 2016.

111. SANTOS JR, D.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; GOMES, M. S.; DE SOUZA, P. F.; LEME, F. D.; DOS SANTOS, L. G. C.; KRUG, F. J. Laser-induced breakdown spectroscopy for analysis of plant materials: A review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 71-72, 3-13, 2012.

112. NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; KRUG, F. J. Determination of Cd, Cr and Pb in phosphate fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 97, 42-48, 2014.

113. BRAGA, J. W. B.; TREVIZAN, L. C.; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; SANTOS, D.; KRUG, F. J. Comparison of univariate and multivariate calibration for the determination of micronutrients in pellets of plant materials by laser induced breakdown spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 65, 66-74, 2010.

114. PERUCHI, L. C.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; GUERRA, M. B. B.; DE ALMEIDA, E.; RUFINI, I. A.; SANTOS, D.; KRUG, F. J. Determination of inorganic nutrients in wheat flour by laser-induced breakdown spectroscopy and energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 100, 129-136, 2014.

115. CHO, H. H.; KIM, Y. J.; JO, Y. S.; KITAGAWA, K.; ARAI, N.; LEE, Y. I. Application of laser-induced breakdown spectrometry for direct determination of trace elements in starch-based flours. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 16, 622-627, 2001.

116. SANTOS, D.; NUNES, L. C.; TREVIZAN, L. C.; GODOI, Q.; LEME, F. O.; BRAGA, J. W. B.; KRUG, F. J. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for cadmium determination in soils. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, 64, 1073-1078, 2009.

117. GONDAL, M. A.; HUSSAIN, T.; YARNANI, Z. H.; BAIG, M. A. The role of various binding materials for trace elemental analysis of powder samples using laser-induced breakdown spectroscopy. **Talanta**, 72, 642-649, 2007.

118. SHI, L. L.; LIN, Q. Y.; DUAN, Y. X. A novel specimen-preparing method using epoxy resin as binding material for LIBS analysis of powder samples. **Talanta**, 144, 1370-1376, 2015.

119. GUERRA, M. B. B.; ADAME, A.; DE ALMEIDA, E.; DE CARVALHO, G. G. A.; BRASIL, M. A. S.; SANTOS, D.; KRUG, F. J. Direct analysis of plant leaves by EDXRF and LIBS: microsampling strategies and cross-validation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 1646-1654, 2015.

120. HARMON, R. S.; RUSSO, R. E.; HARK, R. R. Applications of laser-induced breakdown spectroscopy for geochemical and environmental analysis: A comprehensive review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 87, 11-26, 2013.

121. EL HADDAD, J.; CANIONI, L.; BOUSQUET, B. Good practices in LIBS analysis: Review and advices. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 101, 171-182, 2014.

122. GALBACS, G. A critical review of recent progress in analytical laser-induced breakdown spectroscopy. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 407, 7537-7562, 2015.

123. SINGH, J. P.; THAKUR, S. N. **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy**. Amsterdam: 2007. 429 p.

124. MIZIOLEK, A. W.; PALLESCHI, V.; SCHECHTER, I. **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) - Fundamentals and Applications**. first. New York: Cambridge University Press, 2006. 640 p.

125. NOLL, R. **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Fundamentals and Applications**. Germany: Springer, 2012. 543 p.

126. BECKHOFF, B.; KANNGIEßER, B.; LANGHOFF, N.; WEDELL, R.; WOLFF, H. **Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis**. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007. 863 p.

127. HASCHKE, M. **Laboratory Micro-X-Ray Fluorescence Spectroscopy**. Switzerland: Springer International Publishing, 2014. 356 p.

128. NASCIMENTO-FILHO, V. F. **Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) e por reflexão total (TXRF)** Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 1999. 32 p.

129. BROUWER, P. **Theory of XRF**. Netherlands: PANalytical BV, The Netherlands, 2010. 59 p.

130. RÖNTGEN, W. C. On a new kind of Rays. **Science**, 3, 227-231, 1896.

131. MOSELEY, H. G. J. XCIII. The high-frequency spectra of the elements. **Philosophical Magazine Series 6**, 26, 1024-1034, 1913.

132. WOBRAUSCHEK, P.; STRELI, C.; LINDGREN, E. S. **Energy Dispersive, X-ray fluorescence analysis**. In: Meyers, R. A., Ed, **Encyclopedia of Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons Ltda, 2010. p. 1-17.

133. GUERRA, M. B. B.; ALMEIDA, E.; CARVALHO, G. G. A.; SOUZA, P. F.; NUNES, L. C.; SANTOS JR., D.; KRUG, F. J. Comparison of analytical performance of benchtop and handheld energy dispersive X-ray fluorescence systems for the direct analysis of plant materials. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 1667-1674, 2014.

134. VAN GRIEKEN, R.; MARKOWICZ, A. **Handbook of X-Ray Spectrometry**. New York, USA: Marcel Dekker, 2001. 1016 p.

135. MARGUÍ, E.; VAN GRIEKEN, R. **X-ray fluorescence spectrometry and related techniques: an introduction**. New York, USA: Momentum Press, 2013. 162 p.

136. MARGUÍ, E.; QUERALT, I.; HIDALGO, M. Application of X-ray fluorescence spectrometry to determination and quantitation of metals in vegetal material. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 28, 362-372, 2009.

137. OMOTE, J.; KOHNO, H.; TODA, K. X-Ray fluorescence analysis utilizing the fundamental parameter method for the determination of the elemental composition in plant samples. **Analytica Chimica Acta**, 307, 117-126, 1995.

138. TAKAHASHI, G. Sample preparation for X-ray fuorescence analysis. III. Pressed and loose powder methods. **Rigaku Journal**, 3, 26-30, 2015.

139. TEZOTTO, T.; FAVARIN, J. L.; PAULA NETO, A.; GRATÃO, P. L.; AZEVEDO, R. A.; MAZZAFERA, P. Simple procedure for nutrient analysis of coffee plant with energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDXRF). **Scientia Agricola**, 70, 263-267, 2013.

140. ANZELMO, J. A.; PROVENCHER, M.; BOUCHARD, M. X-ray Fluorescence Spectroscopy, Part II: Sample Preparation. **Spectroscopy**, 29, 1-3, 2014.

141. SALVATO, N.; PIROLA, C. Analysis of mercury traces by means of solid sample atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, 123, 63-71, 1996.

142. BOYLAN, H. M., WALTER, P. J., KINGSTON, H. M. "Direct Mercury Analysis: Field and Laboratory Validation for EPA Method 7473".

143. ROY, N. K.; BOSE, S. S. Determination of mercury in thirty-three international stream sediment and soil reference samples by direct mercury analyser. **Geostandards and Geoanalytical Research**, 32, 331-335, 2008.

144. DMA-80 Direct Mercury Analyzer. Milestone Inc. Disponível em: http://media.wix.com/ugd/903fea_1f228aba6f7b4595b9e21cc8c48c9fc3.pdf.

145. U.S. EPA. Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry, Draft Method 7473. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, U.S.A. 1998.

146. ASTM D6722-11, Standard Test Method for Total Mercury in Coal and Coal Combustion Residues by Direct Combustion Analysis, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2001, www.astm.org.

147. ASTM D7623-10, Standard Test Method for Total Mercury in Crude Oil Using Combustion-Gold Amalgamation and Cold Vapor Atomic Absorption Method, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2015, www.astm.org.

148. BRADY, J. E.; SENESE, F. **Chemistry: Matter and Its Changes**. John Wiley 2004. 1256 p.

149. MAGALHÃES, C. E. C.; ARRUDA, M. A. Z. Amostragem de suspensões: emprego da técnica na análise direta de amostras. **Quimica Nova**, 21, 459-466, 1998.

150. GOODALL, P.; FOULKES, M. E.; EBDON, L. Slurry nebulization inductively coupled plasma spectrometry-the fundamental parameters discussed. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 48, 1563-1577, 1993.

151. EBDON, L.; FOULKES, M.; SUTTON, K. Slurry Nebulization in Plasmas. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 12, 213-229, 1997.

152. KARWOWSKA, R.; JACKSON, K. W. Atomisation characteristics of lead determined in alumina matrices by slurry-electrothermal atomisation atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 2, 125-129, 1987.

153. MILLER-IHLI, N. J. Slurry sample preparation for simultaneous multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 3, 73-81, 1988.

154. MILLER-IHLI, N. J. Advances in ultrasonic slurry graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 345, 482-489, 1993.

155. MILLER-IHLI, N. J. Slurry sampling for graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 337, 271-274, 1990.

156. MILLER-IHLI, N. J. Influence of slurry preparation on the accuracy of ultrasonic slurry electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 9, 1129-1134, 1994.

157. BENDICHO, C.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Solid sampling in electrothermal atomic absorption spectrometry using commercial atomizers. A review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 6, 353-374, 1991.

158. STEPHEN, S. C.; LITTLEJOHN, D.; OTTAWAY, J. M. Evaluation of a slurry technique for the determination of lead in spinach by electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Analyst**, 110, 1147-1151, 1985.

159. MILLER-IHLI, N. J. Automated ultrasonic mixing accessory for slurry sampling into a graphite furnace atomic absorption spectrometer. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 4, 295-297, 1989.

160. MAJIDI, V.; HOLCOMBE, J. A. Error analysis for sampling of slurries: sedimentation errors. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 45, 753-761, 1990.

161. FAGIOLI, F.; LANDI, S. Evaluation of a New Method for the Determination of Elements in Vegetable Foods and Feeds by Atomic Absorption Spectroscopy with Sampling of Carbonaceous Slurry. **Analytical Letters**, 16, 1435-1447, 1983.

162. HOENIG, M.; DE KERSABIEC, A.-M. Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 51, 1297-1307, 1996.

163. VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; GARCÍA, I. L.; CÓRDOBA, M. H. Rapid determination of calcium, magnesium, iron and zinc in flours using flow injection flame atomic absorption spectrometry for slurry atomization. **Food Chemistry**, 46, 307-311, 1993.

164. LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; FERREIRA, A. T.; BARBOSA JR, F. Tungsten-rhodium permanent chemical modifier for cadmium determination in fish slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 14, 269-274, 1999.

165. JANUZZI, G. S. B.; KRUG, F. J.; ARRUDA, M. A. Z. Application of the Slurry Technique to the Determination of Selenium in Fish Samples by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 12, 375-378, 1997.

166. SANTOS, W. N. L.; CAVALCANTE, D. D.; MACEDO, S. M.; NOGUEIRA, J. S.; DA SILVA, E. G. P. Slurry Sampling and HG AFS for the Determination of Total Arsenic in Rice Samples. **Food Analytical Methods**, 6, 1128-1132, 2013.

167. WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. Comparison of strategies for sample preparation prior to spectrometric measurements for determination and speciation of arsenic in rice. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 65, 122-136, 2015.

168. FERREIRA, S. L. C.; DOS SANTOS, W. N. L.; DOS SANTOS, I. F.; JUNIOR, M. M. S.; SILVA, L. O. B.; BARBOSA, U. A.; DE SANTANA, F. A.; QUEIROZ, A. F. S. Strategies of sample preparation for speciation analysis of inorganic antimony using hydride generation atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, 114, 22-31, 2014.

169. REYES, M. N. M.; CERVERA, M. L.; DE LA GUARDIA, M. Determination of total Sb, Se, Te, and Bi and evaluation of their inorganic species in garlic by hydride-generation–atomic-fluorescence spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 394, 1557-1562, 2009.

170. FERREIRA, S. L. C.; LEMOS, V. A.; SILVA, L. O. B.; QUEIROZ, A. F. S.; SOUZA, A. S.; DA SILVA, E. G. P.; DOS SANTOS, W. N. L.; DAS VIRGENS, C. F. Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices — A review. **Microchemical Journal**, 121, 227-236, 2015.

171. CARVALHO, G. G. A.; FERES JR, M. A.; FERREIRA, J. R.; KENNEDY, V. H. Total and inorganic mercury determination in fish tissue by flow injection cold vapour atomic fluorescence spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 90, 686-696, 2010.

172. SILVA, L. O. B.; DA SILVA, D. G.; LEAO, D. J.; MATOS, G. D.; FERREIRA, S. L. C. Slurry Sampling for the Determination of Mercury in Rice Using Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. **Food Analytical Methods**, 5, 1289-1295, 2012.

173. MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, R. E. Chemical Vapor Generation with Slurry Sampling: A Review of Applications to Atomic and Mass Spectrometry. **Applied Spectroscopy Reviews**, 47, 41-82, 2012.

174. FERREIRA, S. L. C.; MIRÓ, M.; SILVA, E. G. P.; MATOS, G. D.; REIS, P. S.; BRANDAO, G. C.; SANTOS, W. N. L.; DUARTE, A. T.; VALE, M. G. R.; ARAUJO, R. G. O. Slurry Sampling—An Analytical Strategy for the Determination of Metals and Metalloids by Spectroanalytical Techniques. **Applied Spectroscopy Reviews**, 45, 44-62, 2010.

175. DE LA CALLE, I.; CABALEIRO, N.; ROMERO, V.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Sample pretreatment strategies for total reflection X-ray fluorescence analysis: A tutorial review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 90, 23-54, 2013.

176. PESCHEL, B. U.; FITTSCHEN, U. E. A.; PEPPONI, G.; JOKUBONIS, C.; STRELI, C.; WOBRAUSCHEK, P.; FALKENBERG, G.; BROEKAERT, J. A. C. Direct analysis of Al_2O_3 powders by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 382, 1958-1964, 2005.

Capítulo 6

ULTRASSONS PARA O PREPARO DE AMOSTRAS

Mauro Korn
Dário Santos Júnior
Rodolfo de Melo Magalhães Santana
Francisco José Krug

6.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE OS ULTRASSONS

Todas as ondas mecânicas se propagam através de meios materiais em sucessivos ciclos de compressão e rarefação. Os ultrassons são ondas mecânicas com frequências maiores que 20 kHz. Ultrassons não são percebidos pelos humanos, uma vez que a frequência é maior que a dos sons audíveis, com frequência entre 20 Hz e 20 kHz. Ultrassons com frequência superior a 2 MHz apresentam normalmente ondas com baixa amplitude e são usualmente empregados, por exemplo, na produção de imagens para diagnóstico clínico. As ondas ultrassônicas com frequências mais baixas, próximas a 20 kHz, podem apresentar amplitude mais elevada (*i.e.* alta potência) que as de alta frequência e, justamente por este motivo, podem provocar transformações nos meios submetidos à insonação.

A sonicação de um líquido com ondas acústicas de frequência entre 20 e 1000 kHz leva à agitação e ao aquecimento do meio, bem como pode ocorrer a cavitação acústica.[1] Esse fenômeno envolve a nucleação, o crescimento e o colapso de microbolhas em líquidos. A cavitação tem início na fase de rarefação das ondas acústicas, quando moléculas de gases e vapores presentes no líquido são direcionadas para o interior dos núcleos produzidos pela disrupção do meio (*i.e.* formação de microbolhas) devido às abruptas mudanças de pressão ocorridas quando uma onda acústica passa da fase de rarefação (*i.e.* pressão negativa) para a de compressão (*i.e.* pressão positiva). A microbolha não irá extinguir na etapa de compressão da onda acústica subsequente a aquela que levou à formação da cavidade, uma vez que, devido ao período da ordem de algumas dezenas de microssegundos, apenas poucas moléculas dos gases contidos na bolha serão expulsas de seu interior ao serem direcionadas para o meio líquido. Nos ciclos subsequentes de rarefação, as dimensões da microbolha aumentarão. Isso ocorrerá até que a microbolha atinja seu diâmetro crítico, de aproximadamente 170 μm em água pura a 20 kHz e, nessa condição, ela irá colapsar, implodindo no próximo ciclo de compressão, como mostrado na Figura 6.1.

O colapso das microbolhas de cavitação durante a irradiação de um líquido num campo ultrassônico de alta potência acarreta em significativas perturbações no meio por onde as ondas se propagam. Essas perturbações resultam em aumento brusco de temperatura e pressão nos pontos onde houveram os colapsos das bolhas (*hot-spots*), bem como na produção de microjatos. Esses jatos, os quais atingem

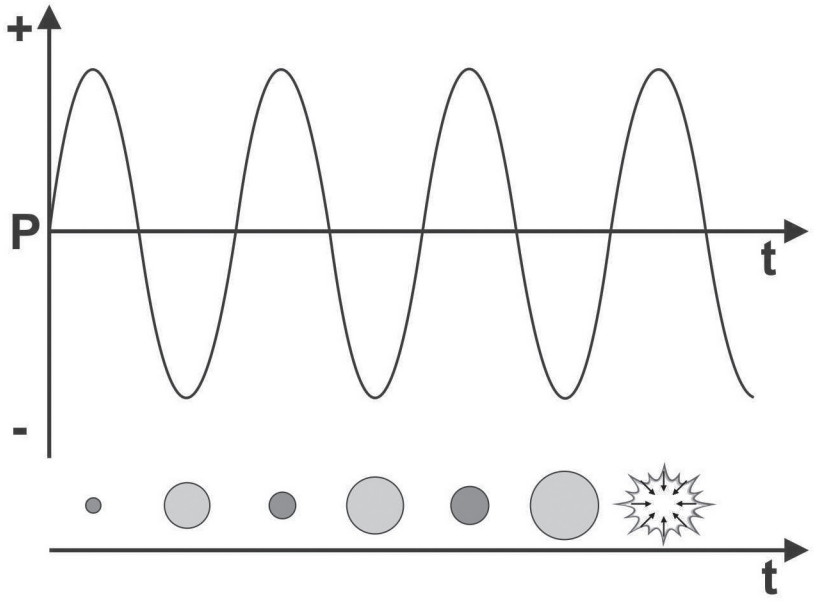

Figura 6.1. A cavitação acústica e sua relação com os ciclos de rarefação e compressão da onda ultrassônica.

velocidades da ordem de algumas centenas de metros por segundo, causam a erosão de sólidos presentes no meio líquido, inclusive da parede interna dos recipientes, sendo que a extensão da erosão depende da composição de cada material. Os ultrassons de alta potência levam também à desestabilização das interfaces líquido-gás, líquido-líquido e sólido-líquido. Os efeitos químicos provocados pelo ultrassom estão intimamente associados à migração de moléculas para as bolhas de cavitação e às elevadas temperaturas e pressões alcançadas no momento do colapso dessas microbolhas.[2,3] De acordo com Suslick *et al.*,[4] o colapso das microbolhas produzidas pelo efeito do ultrassom resulta em temperaturas instantâneas da ordem de 5200 K na fase gasosa e 1900 K na interface gás/líquido, com taxa de aquecimento e resfriamento da ordem de 10^{10} Ks^{-1}. Outro fato que surpreende é a elevada pressão pontual que atinge valores da ordem de 1000 atm no momento do colapso. Assim, pode ser admitido que cada bolha de cavitação tenha o comportamento de um reator de dimensões micrométricas, gerando, no momento subsequente ao colapso implosivo, microjatos de até 400 m s^{-1}, além do rompimento de ligações químicas em algumas moléculas presentes no interior da bolha. O rompimento homolítico das ligações químicas gera radicais livres (*e.g.* •OH, $•O_2H$) no meio irradiado. A instabilidade dos radicais livres formados e o aumento da entropia provocado pela

agitação, cavitação acústica e pelos microjatos justificam o aumento na reatividade química de diferentes espécies expostas ao campo ultrassônico.[5-7]

Os ultrassons são gerados por transdutores piezoelétricos ou magnetoestritivos, sendo que as configurações mais comuns são aquelas baseadas em elementos piezoelétricos. Estes transdutores, ao serem submetidos a um campo elétrico, sofrem deformações eletroelastomecânicas, resultando na produção de ondas ultrassônicas. Vários materiais, como turmalina, quartzo, topázio e o sal de Rochelle (tartarato de sódio e potássio tetraidratado), apresentam propriedades piezoelétricas. O titanato de bário ($BaTiO_3$) é uma cerâmica sintética muito empregada na fabricação de dispositivos emissores de ultrassons. Outros materiais cerâmicos sintéticos também podem ser empregados como transdutores. Entre eles se destacam o titanato de chumbo ($PbTiO_3$) e o titanato zirconato de chumbo ($Pb[Ti_xZr_{1-x}]O_3$), também conhecido como PZT. O PZT é a cerâmica mais largamente empregada para a construção de diversos dispositivos baseados em propriedades piezoelétricas. Em geral, nos dispositivos geradores de ondas ultrassônicas, o material cerâmico está posicionado entre duas armaduras metálicas para a amplificação dos sinais e a frequência da onda acústica gerada é inversamente proporcional à espessura do elemento transdutor. Portanto, selecionado o elemento piezoelétrico no dispositivo emissor de ultrassons, a frequência de ressonância estará definida. Além da frequência da onda, a intensidade da energia acústica (Wcm^{-2}) é outra característica importante dos ultrassons; sendo a intensidade acústica proporcional ao quadrado da amplitude da vibração.[1]

O banho e o homogeneizador ultrassônico são equipamentos habitualmente encontrados em laboratórios de análises químicas e bioquímicas. O banho ultrassônico é frequentemente empregado para a limpeza de vidrarias, circuitos impressos e para a desinfecção de materiais cirúrgicos e odontológicos. Por outro lado, o rompimento de paredes celulares é a aplicação mais difundida para os homogeneizadores ultrassônicos, também conhecidos como disruptores de células. Esquemas para um banho (A) e um homogeneizador (B) ultrassônicos são apresentados na Figura 6.2. Vale ressaltar que, nesses equipamentos, os geradores de ultrassons somente devem ser ativados caso seja garantido o contato direto entre o elemento de propagação das ondas ultrassônicas e um líquido. É importante que não haja segmentação por nenhuma bolha de gás entre o líquido e o metal (*e.g.* alumínio, aço e liga de titânio) responsável pela propagação das ondas. Esse cuidado é justi-

ficado pelo aumento significativo da resistência à propagação das ondas acústicas nos gases, quando comparado com meios líquidos ou sólidos. Isso é explicado pelo fato da velocidade de propagação do som ser máxima nos sólidos, mas diminuir significativamente nos líquidos e gases. Cabe destacar que as ondas acústicas, assim como quaisquer ondas mecânicas, não se propagam no vácuo.

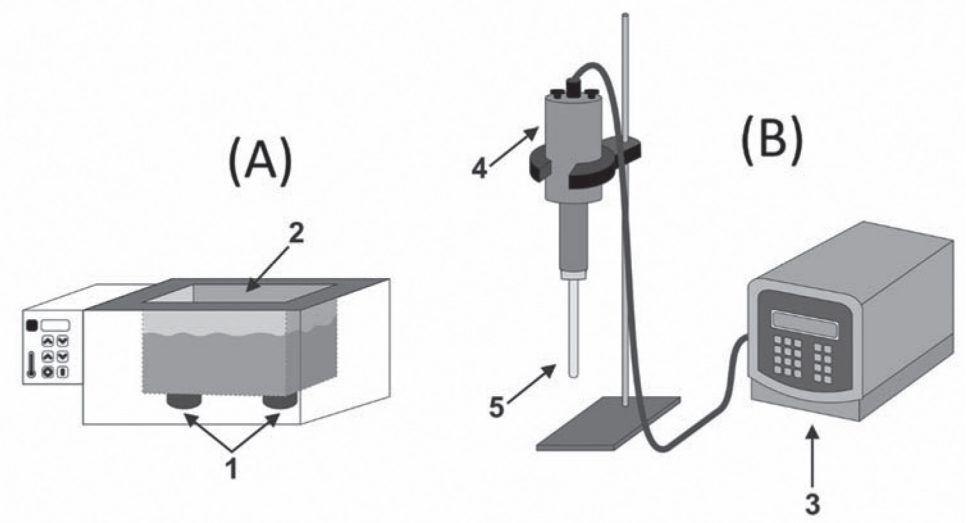

Figura 6.2. Esquema de dispositivos para aproveitamento de ondas ultrassônicas empregados em laboratórios. (A) Banho de ultrassom. (B) Homogeneizador ultrassônico (disruptor de células). 1. piezocerâmicas; 2. tanque; 3. gerador; 4. transdutor; 5. Transmissor (*probe*).

Em geral, nos banhos ultrassônicos, as piezocerâmicas estão posicionadas na parte externa do fundo do tanque metálico, de modo a evitar o contato direto entre o elemento transdutor e o líquido inserido no tanque. Esse posicionamento minimiza as perdas de energia, bem como os riscos de erosão do transdutor, caso este estivesse em contato com um líquido. Entretanto, alguns fabricantes desenvolveram banhos nos quais o transdutor é imerso no tanque junto com o líquido. Nessa condição as bolhas de cavitação surgirão na vizinhança do elemento gerador do ultrassom, resultando em aquecimento localizado.

Os banhos ultrassônicos de baixa intensidade equipados com modernos transdutores piezoelétricos têm, em geral, intensidades entre 1 e 2 W cm^{-2}. De acordo com Mason e Lorimer,[1] a determinação da intensidade ultrassônica em um dado ponto da solução não é uma tarefa simples e, geralmente, é apenas executada por métodos calorimétricos. Esses autores sugeriram a execução de um teste simples, que é realizado com uma folha de papel de alumínio posicionada no interior do

banho ultrassônico com água e detergente e sonicação por 30 s. Caso o banho seja apropriado, nesses 30 s a folha de alumínio deverá ser perfurada devido à cavitação acústica. A região do papel de alumínio onde for observado o maior número de perfurações será aquela onde a intensidade dos ultrassons será maior, e os frascos de reação deverão ser posicionados nessa região.

6.2. ULTRASSONS NA AMOSTRAGEM DE SUSPENSÕES

A sonicação de misturas sólido-líquido resulta na formação de bolhas de cavitação nas vizinhanças do sólido, podendo levar à (i) desagregação do material, pela ação de microjatos; (ii) aumento da reatividade pela geração de radicais livres; (iii) diminuição do gradiente de concentração nas proximidades do material sólido, pela produção de microfluxo de matéria e/ou (iv) fusão do sólido, devido às temperaturas extremamente elevadas atingidas no momento do colapso das bolhas de cavitação.[8] A presença de sólidos no meio leva, também, à deformação das bolhas de cavitação. Esse efeito é relacionado à intensificação da produção das bolhas de cavitação na vizinhança do sólido e pode ser explicado, por exemplo, (i) pela perda da uniformidade na distribuição de moléculas de gases dissolvidos nas proximidades do sólido e (ii) por possíveis interações de reflexão das ondas acústicas com as partículas sólidas. As bolhas de cavitação em um líquido sonicado assumem elevado grau de esfericidade e, no momento do colapso, os microjatos ocorrerem em todas as direções. Contudo, nos sistemas contendo partículas sólidas em suspensão, a nova geometria das bolhas de cavitação, em forma de coração, faz com que, no momento do colapso, os microjatos sejam preferencialmente direcionados para o sólido. Isso garante a agitação, apesar de haver certo comprometimento nos microfluxos de matéria durante as etapas de nucleação e crescimento das bolhas de cavitação, visto que as moléculas de gás que penetrarem nas cavidades serão preponderantemente oriundas da vizinhança da bolha que está mais distante do material particulado.

Nos procedimentos de amostragem de suspensões com agitação ultrassônica é comum que uma fração significativa do analito seja extraída para a fase líquida, melhorando, em alguns casos, a precisão e a exatidão. Com base nestas observações, muitos autores propuseram estudos mais detalhados sobre os efeitos

do ultrassom no preparo de suspensões e vários trabalhos têm explorado a extração dos analitos para o meio líquido pela ação dos ultrassons, seguida da amostragem apenas do sobrenadante para determinação.[9] Ao se comparar com a amostragem de suspensões, a extração de um analito do material em suspensão para a fase líquida apresenta uma série de vantagens, como:

(i) Pode-se prescindir da adição de agentes surfactantes no sistema, uma vez que os erros relacionados às diferenças nas taxas de sedimentação deixarão de ser importantes;

(ii) A massa representativa será proporcional àquela utilizada para o preparo das suspensões (*e.g.* 50 – 1000 mg) e, consequentemente, esperar-se-á maior confiabilidade nos resultados obtidos quando comparados com a análise de suspensões ou a amostragem direta de sólidos a partir de materiais heterogêneos;

(iii) Serão evitados erros associados a distribuições não uniformes do tamanho das partículas;

(iv) Etapas de diluição poderão ser executadas com um amostrador automático;

(v) Efeitos de matriz serão minimizados, uma vez que apenas a fração extratora líquida será introduzida no atomizador.

(vi) A ação dos modificadores químicos será significativamente melhorada nas determinações por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, uma vez que o modificador irá interagir melhor com o analito em solução, quando comparado com a interação com analito ocluso nas partículas;

(vii) Há a possibilidade de obter melhores resultados no uso de soluções de referência para a construção de curvas analíticas de calibração;

(viii) Baixo consumo de soluções ácidas (permite o uso de soluções diluídas de HNO_3 e/ou HCl);

(ix) Maior tolerância quanto ao tamanho das partículas, quando comparado à amostragem de suspensões na introdução da amostra em nebulizadores (*e.g.* ICP OES e ICP-MS);

(x) Possibilidade de aplicação do princípio do frasco único para a minimização dos riscos de contaminação, se a amostra for preparada diretamente nos frascos do amostrador automático ou em tubos volumétricos de centrífuga;

(xi) Aumento da segurança do operador, em comparação aos procedimentos de decomposição da amostra via úmida a quente (> 100 ºC), uma vez que os métodos de extração ultrassônica serão geralmente conduzidos à temperatura ambiente.

Entretanto, na literatura também são apresentadas uma série de limitações para os métodos de extração assistidos por ultrassons. Entre essas, deve-se destacar que (i) geralmente, a massa tomada da alíquota é menor que aquela utilizada nos procedimentos de digestão em sistemas abertos e, para a maioria dos casos, existe um compromisso entre a capacidade do frasco utilizado para as extrações, a composição da solução extratora e o tempo de sonicação; (ii) o tamanho das partículas pode ser crítico e deve ser cuidadosamente avaliado; (iii) a robustez dos métodos de extração executados com banhos ultrassônicos é questionável, uma vez que a distribuição da intensidade ultrassônica no interior da cavidade do banho não é homogênea e pode variar de acordo com a quantidade de líquido contido na cavidade, com o material dos frascos, com o número de frascos expostos simultaneamente à irradiação e com a posição do transdutor ultrassônico e (iv) embora o tempo de extração seja curto, geralmente inferior a 20 min, a frequência analítica é drasticamente limitada ao número de frascos que podem ser inseridos simultaneamente na cavidade do banho sem que haja prejuízo para a distribuição da energia acústica.

Frente às vantagens e limitações inerentes a qualquer procedimento analítico, inicialmente, é possível inferir que a extração ultrassônica apresenta potencialidades e surge como uma alternativa aos procedimentos convencionais utilizados no preparo de amostras para espectrometria atômica. A amostragem de suspensões foi tratada mais detalhadamente no Capítulo 5.

6.3. EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ONDAS ULTRASSÔNICAS

Nos últimos anos um bom número de métodos de preparo de amostras em espectrometria atômica utilizando ultrassom foi publicado. Contudo, a quantidade de métodos de extração assistida por ultrassom se mantém inexpressiva quando comparada ao número de métodos de decomposição assistida por radiação micro-ondas.[10] As extrações assistidas por ultrassom de alguns elementos, como cádmio,

chumbo, cobre e manganês têm sido mais reportadas na literatura. Por outro lado, informações sobre a extração de elementos como antimônio, bário, bismuto, molibdênio, entre outros, ainda são incipientes.

Embora a aplicação do ultrassom visando à indução de reações químicas (sonoquímica) pareça uma tarefa simples, são necessários conhecimentos de fundamentos desta fonte de energia, bem como dos principais fatores físicos que podem influenciar os processos sonoquímicos. Aspectos relevantes sobre a teoria da aplicação do ultrassom com ênfase extensiva nos efeitos químicos e físicos, assim como nos cálculos matemáticos pertinentes aos fenômenos de cavitação acústica, são abordados em diferentes publicações.[11-16]

De acordo com Capelo *et al.*,[9] os resultados mais contraditórios reportados na literatura sobre o uso da extração ultrassônica no preparo de amostras estão relacionados a procedimentos que empregam banhos ultrassônicos. Geralmente, a potência e a dissipação da energia desses equipamentos variam fortemente com a frequência, configuração e posição dos transdutores piezoelétricos, assim como com o volume da cuba do banho. A dificuldade é que essas características também variam com o fabricante, sendo difícil comparar os resultados obtidos com diferentes banhos ultrassônicos. Nesses equipamentos, a energia ultrassônica é transmitida de forma indireta para os frascos de reação. Assim, a potência e o perfil de distribuição da energia ultrassônica podem proporcionar resultados contraditórios quanto à reprodutibilidade de resultados analíticos obtidos em diferentes laboratórios. Como exemplo, Santos *et al.* encontraram diferentes percentuais de extração de arsênio em alimentos marinhos,[17] até mesmo quando empregaram um único banho ultrassônico.

Como os ultrassons têm que atravessar as paredes do frasco de reação para atingir o sistema em investigação, e parte da energia é absorvida e/ou refletida pelas paredes do frasco que contém a amostra e a solução reagente, a energia acústica excedente que deverá induzir a cavitação no interior do frasco é significativamente menor que no interior da cuba e logo acima do transdutor. Assim, especial atenção deve ser dada às características dos frascos de reação como material, geometria, espessura da parede, integridade física (ranhuras), velocidade do som no material e coeficiente de atenuação do material. Por outro lado, a transmissão indireta de energia para os frascos proporciona menor possibilidade de contaminação, visto que não há contato direto das amostras com o meio líquido do banho, nem com

peças metálicas. Ressalta-se também, a possibilidade de sonicação concomitante de mais de uma amostra, mas o perfil de distribuição da energia ultrassônica no interior do banho com diferentes quantidades de frascos de reação deve ser cuidadosamente avaliado pelo operador. Nesse sentido, especial atenção deve ser dada às características técnicas do equipamento, assim como aos frascos de reação, no desenvolvimento de procedimentos analíticos que façam uso de banhos ultrassônicos.

Outro dispositivo comumente utilizado para extração sólido-líquido é o homogeneizador ultrassônico. Nesse tipo de equipamento, o transdutor é acoplado a uma sonda de titânio ou liga de titânio (*e.g.* Ti-6AL-4V), a qual é inserida diretamente no meio contendo o líquido e as partículas sólidas em suspensão. Geralmente, esse dispositivo proporciona, ao meio de extração, amplitudes de onda muito maiores que aquelas associadas aos banhos ultrassônicos (*e.g.* 1 a 5 W cm^{-2} em banho de ultrassom contra 50 a 200 W cm^{-2} com os homogeneizadores, tipicamente operados a 20 kHz). Essas ondas são dissipadas diretamente na suspensão e alguns autores têm destacado sua eficiência também para redução do tamanho das partículas,[17,18] redução do tempo, bem como melhoria da eficiência de extração.[9] Entretanto, a inserção do transmissor do homogeneizador diretamente na suspensão pode representar uma fonte de contaminação da amostra por elementos presentes na sonda. Na Tabela 6.1 são apresentadas as principais características de banhos e homogeneizadores ultrassônicos e os valores médios frequentemente reportados para equipamentos de uso laboratorial. Ressalta-se que banhos e homogeneizadores

Tabela 6.1. Características dos banhos e homogeneizadores ultrassônicos empregados para o preparo de amostras em procedimentos analíticos.

	Banho	**Homogeneizador**
Intensidade (W cm^{-2})	1 – 5	50 – 200
Amplitude variável*	Sim	Sim
Aplicação direta na amostra	Não	Sim
Custo	< US$ 1000	US$ 2000 - 4500
Solução extratora	HNO_3 / HCl (< 3 mol L^{-1})	HNO_3 (< 1,4 mol L^{-1})
Frequência analítica	Baixa (1 - 6 amostras / 20 min) [a]	Baixa (1 amostra / 5 min) [b]

*A intensidade depende da amplitude do deslocamento imposto pelo elemento transdutor, o qual depende da frequência e da potência nominal aplicada. [a]Banhos com maior capacidade podem ter a frequência analítica aumentada. Porém, a distribuição dos ultrassons na cuba deve ser avaliada. [b]Alguns fabricantes oferecem equipamentos com múltiplas sondas de transmissão, que podem ser empregadas para aumentar a frequência de amostragem.

ultrassônicos com níveis mais elevados de potência acústica são comercialmente disponíveis.

Na Tabela 6.2 estão apresentadas as características de alguns métodos que empregaram extrações assistidas por ultrassom visando determinações por técnicas de espectrometria atômica. O percentual de extração foi determinado a partir da concentração da espécie de interesse em materiais de referência certificados ou pela comparação com os valores obtidos após a decomposição ácida das amostras. Em alguns casos, o percentual de extração foi comparado à fração correspondente de cada analito em métodos de extração sequencial. Ao considerar as informações da Tabela 6.2 observa-se que o emprego de sondas ultrassônicas proporciona menores intervalos de tempo e maiores eficiências de extração que os métodos que fazem uso dos banhos de ultrassom.

Entretanto, alguns resultados divergentes sobre a extração ultrassônica também foram publicados, principalmente com o uso de banhos de ultrassom nos procedimentos de extração de alguns elementos de diferentes tipos de amostras. Entre alguns exemplos, Mierzwa *et al.* não obtiveram recuperações quantitativas para selênio em amostras de fígado bovino,[19] aplicando extração em banho ultrassônico a 70 °C por 18 min. Em contrapartida, Bermejo-Barrera *et al.* obtiveram recuperações quantitativas para o mesmo elemento em amostras de cabelo utilizando um banho ultrassônico a 90 °C por apenas 10 min.[20] Essa diferença pode ser justificada pela condição da amostra na extração, tipo de ácido, pela forma em que o selênio está associado às diferentes matrizes, pelas condições aplicadas na extração.

Outras conclusões divergentes foram observadas nos resultados de extrações ácidas de amostras biológicas realizadas em banhos de ultrassom. El Azouzi *et al.* utilizaram uma solução contendo 1,6 mol L^{-1} HNO_3, 2 mol L^{-1} HCl e 0,1 mol L^{-1} H_2O_2 para extração ultrassônica de metais em amostras de mexilhão.[21] Esses autores obtiveram recuperações quantitativas de Cd (95%) e Cu (100%), somente após 120 min de sonicação. Contudo, mesmo após esse tempo, a extração de crômio foi parcial (54%). Enquanto isso, Minami *et al.*, empregaram banhos de ultrassom e solução 1 mol L^{-1} de HNO_3, e reportaram extrações quantitativas de Cd, Cu, Mn e Pb em diferentes materiais biológicos de origem animal e vegetal após 5 min de sonicação.[22] Apesar de nos dois estudos as matrizes serem biológicas (tecido animal), os relatos não esclarecem os motivos de um dos

grupos atingir recuperações quantitativas para Cd e Cu após 120 min de sonicação em meio extrator mais agressivo (HNO_3, HCl e H_2O_2),[21] enquanto o outro grupo atingiu eficiência equivalente com apenas 5 min de sonicação em meio de HNO_3 1 mol L^{-1}.[22] Em estudos realizados também com tecidos de animais marinhos, Bermejo-Barrera *et al.* propuseram a extração de As, Ca, Cd, Co, Cr, Mn, Pb, Se, Zn, Ca, Fe, Hg e Mg empregando banhos ultrassônicos.[23] De acordo com os autores, para intervalos de tempo de sonicação entre 10 e 120 min não foram observados efeitos significativos na recuperação das espécies de interesse; exceção feita ao selênio, para o qual foram necessários 30 min de sonicação a 90 ºC. A concentração de ácidos na mistura extratora foi otimizada para cada analito. Foram usadas soluções extratoras contendo entre 0,5 e 4,5 mol L^{-1} HNO_3, associadas, ou não, ao HCl entre 0,5 e 4,5 mol L^{-1}. Ao considerar as conclusões desses três estudos realizados com amostras similares, fica evidente a dificuldade em estabelecer um método de preparo de amostras de tecido de animais marinhos assistida por ultrassons que possa ser reproduzida em qualquer laboratório. Certamente, há outros parâmetros críticos fortemente relacionados com a extração ultrassônica, que não foram convenientemente detalhados nesses estudos, tais como a potência acústica efetiva, os tipos de frascos e suas características como o formato, composição química, capacidade, espessura das paredes, ocorrência de ranhuras ou microfraturas, além de parâmetros como a rigidez e a capacidade de atenuação dos ultrassons. Esses parâmetros afetam também os brancos analíticos produzidos nesses frascos submetidos ao campo ultrassônico, devido ao risco de lixiviação de espécies das paredes internas dos recipientes empregados para as extrações.

A obtenção de brancos analíticos para procedimentos de extração, conduzidos sob a ação de ultrassons em banho ou homogeneizadores tipo sonda, é uma tarefa que merece atenção, uma vez que as bolhas de cavitação e os microjatos se comportam diferentemente na presença ou ausência de partículas sólidas no meio.[24] Assim, se o branco analítico é habitualmente entendido como uma solução preparada que não contém a amostra e que passa por todas as etapas do processamento que a amostra também foi submetida, como poderá ser garantido que o branco seja fiel se o comportamento dos ultrassons com sólidos em suspensão é diferente daquele dos ultrassons em soluções? Esse é um importante desafio para a validação dos métodos de preparo de amostras assistidos por ultrassons.

Tabela 6.2. Trabalhos que empregam extração assistida por ultrassom na determinação elementar por espectrometria atômica.

Amostra	Analitos (% de recuperação)	Dispositivo (tempo)	Solução extratora (técnica analítica)	Ref.
Fígado bovino e crustáceo	Se (85 – 88%)	Banho (18 min)	4% v v^{-1} HNO_3 (GFAAS)	18
Cabelo	Cd, Cr, Pb, Se (> 90%), Me-Hg (> 90%)	Banho (10 min)	4,8 mol L^{-1} HNO_3 + 4,8 mol L^{-1} HCl + 0,5 mol L^{-1} H_2O_2 (GFAAS) 0,5 mol L^{-1} HNO_3 + 4,8 mol L^{-1} HCl + 0,5 mol L^{-1} H_2O_2 (CVAAS)	19
Mexilhão	Ca, Cd, Cu, K, Mg, Mn, Na, V, Zn (> 90%)	Banho (120 min)	1,6 mol L^{-1} HNO_3 + 1,2 mol L^{-1} HCl + 0,1 mol L^{-1} H_2O_2 (FAAS e GFAAS)	20
Tecido animal e vegetal	Cd, Cu, Mn, Pb (≈ 100%)	Banho (5 min)	0,5 mol L^{-1} HNO_3 (GFAAS e MIP-MS)	21
Tecido animal marinho	As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Pb, Se, Zn (85 - 105%)	Banho (10 - 30 min)	0,5 - 4,5 mol L^{-1} HNO_3, 2,0 - 4,0 mol L^{-1} HCl, 1,5 mol L^{-1} H_2O_2 (GFAAS, FAAS e CVAAS)	22
Tecido animal e vegetal, sedimentos	Cd, Cu, Pb (> 96%), Cd (97%), Cu (60%), Pb (54%)	Sonda (2 - 5 min)	0,5 a 5,0% (v v^{-1}) HNO_3 (GFAAS)	23
Material biológico e sedimentos	Cd (> 96%), Cd (> 75%)	Sonda (1 min)	3% v v^{-1} HNO_3 (GFAAS)	24
Sedimento	Cd (74%), Cr (38%), Ni (67%), Pb (58%), Zn (62%), Cu (62%), Al (53%), As (65%), Co (60%), Fe(24%), Mg (78%), Mn (79%)	Banho (20 - 30 min)	Extração sequencial BCR (ICP OES)	25
Solos e sedimentos	Fe, Mn, Zn (84 – 98%) Cu (74%)	Sonda (10 min) Banho (180 min)	Extração sequencial BCR (FAAS e ICP OES)	26
Alga marinha	As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mn, Mg, Na, Ni, Zn (~100%), Al (48%), Ba (70%), Pb (93%), V (80%), Cr (34 - 100%)	Banho (10 + 35 min)	6,0 mol L^{-1} HCl (etapa 1) e 3,7 mol L^{-1} HNO_3 + 3,0 mol L^{-1} HCl + 3,0 mol L^{-1} H_2O_2 (etapa 2) / (ICP OES)	27
Vegetais	Ca, Mg, Mn, Zn / (96 – 102%), Fe (98%, repolho)	Banho (10 min)	0,14 ou 1,4 mol L^{-1} HNO_3 (FAAS)	28
Carne	Zn (~ 100%)	Banho (0,5 min)	0,75 mol L^{-1} HNO_3 + 0,75 mol L^{-1} HCl (FAAS)	29

Tabela 6.2. Trabalhos que empregam extração assistida por ultrassom na determinação elementar por espectrometria atômica. (cont.)

Tecido animal, tecido vegetal e cinzas	Hg e CH_3-Hg (~ 100%)	Sonda (10 min)	5% v v^{-1} HNO_3 - 0,02% v v^{-1} tioureia, 10% v v^{-1} HNO_3 – 0,02% tioureia, 20% v v^{-1} HNO_3 – 0,2% v v^{-1} tioureia (CVAAS)	30
Sedimento	As(III), As(V), monometilarsênio e dimetilarsênio (~ 100%)	Sonda (1 min)	Especiação em tampão fosfato (pH 5,5 – 5,6) (HPLC-AFS)	31
Mexilhão	Cd, Pb (~ 100%)	Banho (2-3 min)	3 mol L^{-1} HNO_3 (FAAS)	32
Músculo de peixe	Ca, Cu, Fe, Mg, Zn (~ 100%)	Banho (25 min)	30% v v^{-1} H_2O_2 – 5% v v^{-1} CFA-C (ICP OES)	33
Solos	Ge (~ 100%)	Sonda (10 min)	12 mol L^{-1} HCl (GFAAS)	34
Tecido animal	Se (93 – 102%)	Sonda (2 min)	Especiação (ICP-MS)	35
Mexilhão, peixe e plantas	Cu (93 – 103%)	Sonda (3 min)	3% v v^{-1} HNO_3 (GFAAS)	36
Cabelo	Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn (> 93%)	Banho (10 min)	4 mol L^{-1} HNO_3 + 3,5 mol L^{-1} HCl (FAAS e GFAAS)	37
Lama, cinza e crustáceo Cabelo	Cd (89 – 102%), Cd (29%)	Banho (20 min)	6 mol L^{-1} HCl (FI-CV-AAS)	38
Alimentos marinhos	As (> 94%)	Sonda (3 min) Banho (30 min)	3% v v^{-1} HNO_3 (GFAAS)	39
Mexilhão	CH_3-Hg, Hg (> 92%)	Sonda (5 min)	CH_3-Hg - 2 mol L^{-1} HCl, Hg - 5 mol L^{-1} HCl (CVAAS)	40
Vegetais	Mg, Mn, Zn (~ 100%)	Sonda (3 min)	0,3% v v^{-1} HNO_3 (FAAS)	41
Lama de esgoto	Cr, Cu, Ni, Pb, Zn (> 96%)	Sonda (22 min)	Extração sequencial BCR (FAAS)	42
Material biológico e sedimentos	As (8 – 111%)	Sonda (20 min)	15% v v^{-1} HCl (FI-HGAAS)	43

As discordâncias nos resultados podem também ser observadas nos experimentos executados com homogeneizadores. Por exemplo, Lima *et al.* obtiveram recuperações quantitativas para Cd em CRMs de materiais biológicos e sedimentos empregando extrações com sonda ultrassônica de 50 W por 2 min,[25] enquanto no estudo conduzido por Capelo e colaboradores foram observadas extrações quantitativas para Cd em materiais biológicos com tamanho de partículas < 50 μm, com sonda de 100 W por 1 min de irradiação.[26] No estudo conduzido por Capelo, não foram obtidas recuperações quantitativas para Cd no mesmo tipo de CRM

de sedimento utilizado por Lima *et al.* (*i.e.* CRM 320 *River Sediment*), mesmo aumentando o intervalo de tempo.[25] Nos casos das extrações conduzidas com os homogeneizadores, alguns parâmetros importantes podem ser considerados. Entre esses, destaca-se a posição da ponta da sonda em relação ao fundo do frasco, porque, como qualquer onda, as ondas mecânicas sofrem interferências construtivas e destrutivas. Assim, para que a ação do ultrassom seja maximizada, é aconselhável que a distância entre o extremo inferior da sonda e o fundo do recipiente seja um múltiplo inteiro da metade do comprimento de onda da radiação ultrassônica. Certamente, o efeito provocado pelo posicionamento inadequado da sonda dependerá do tipo de frasco e rigidez do material, uma vez que a onda deverá ser refletida.

Uma terceira alternativa de sistema para sonicação denominado *cup-horn* é baseada nos mesmos homogeneizadores ultrassônicos, mas com a substituição da sonda por dispositivos que permitem a irradiação indireta da amostra, *i.e.*, sem o contato com a sonda. Com esse dispositivo, o risco de contaminação pela erosão da superfície da sonda é eliminado.

O grupo de pesquisa da Universidade de Vigo, liderado por Bendicho e Lavilla, vem explorando as extrações empregando homogeneizadores equipados com *cup-horn* para o preparo das amostras. Entre os diferentes artigos publicados destaca-se a investigação de De la Calle *et al.* que obtiveram recuperação quantitativa para Sb, mas não para cobalto (~ 72%) em amostras de sedimentos.[27] No Brasil, Teixeira e colaboradores desenvolveram procedimentos de extração utilizando *cup-horn*. Os autores relataram grande eficiência na extração de elementos-traço em amostras de fertilizantes orgânicos em condições não severas de extração no tocante ao volume de reagentes e temperatura. O referido processo levou a um aumento na produtividade analítica, com cerca de 32 extrações por hora, com recuperações entre 80 e 117%. Esses resultados estão em concordância com os valores preconizados como aceitáveis para esse tipo de amostra por agências reguladoras internacionais.[28]

Canepari *et al.* compararam as extrações sequenciais assistidas por micro-ondas e ultrassom para as determinações de Cd, Cr, Ni, Pb, Zn, Cu, Al, As, Co, Fe, Mg e Mn em sedimentos.[29] A extração assistida por ultrassom apresentou baixas recuperações para todos os elementos (*e.g.* Fe < 24%, Mg < 78%, Zn < 62%, Cu < 62%). Além disso, os autores ressaltaram que o método assistido por ultrassom foi pouco reprodutível, até mesmo quando comparado com agitação mecânica. Por sua vez, Davidson e Delevoye reportaram valores concordantes entre as taxas de

extração sequencial empregando técnica convencional e com o auxílio de ultrassom para as determinações de Fe, Mg e Zn em solos e sedimentos (de 84 a 98%).[30] Nesse estudo, também foram reportados baixos níveis de extração de Cu (74%) e o desempenho do método assistido por ultrassom foi deficiente para extração de alguns dos analitos em sedimentos marinhos, sendo que a eficiência para diferentes espécies variou entre 58 e 104%. Segundo esses autores, os coeficientes de variação observados para essas amostras evidenciam as dificuldades do desenvolvimento de métodos de extração sequencial assistidos por ultrassom para aplicação em amostras diversas.

Domínguez-González *et al.* empregaram preparo de amostra assistido por ultrassom para avaliar os teores de Al, As, Ba, Fe, V, Ca, K, Na, Mg, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn em algas marinhas.[31] Foram necessários 10 min de sonicação em meio 6 mol L^{-1} HCl a 65 °C para o rompimento das paredes celulares das algas, permitindo melhores recuperações de elementos, como Al, As, Fe, Ba e V. Após essa etapa, foram necessários mais 35 min de sonicação a 65 °C em meio 3,7 mol L^{-1} HNO_3 + 3,0 mol L^{-1} HCl + 3,0 mol L^{-1} H_2O_2 para a extração dos demais analitos. Nesse estudo, foram obtidas recuperações quantitativas para Fe (93 a 97%) em CRMs, mesmo se tratando de um elemento de difícil extração com ultrassom. Em outra investigação, Nascentes *et al.* demonstraram que 10 min de sonicação foram suficientes para a extração quantitativa de Ca, Mg, Mn e Zn com 0,14 mol L^{-1} HNO_3 em diferentes amostras de tecido vegetal.[32]

Os muitos resultados apresentados na literatura permitem inferir que as ondas mecânicas geradas por processadores ultrassônicos promovem a extração de analitos importantes na análise de materiais biológicos, solos e sedimentos. Neste sentido, a extração assistida por ultrassom pode ser recomendada como um método de *screening*, configurando-se como uma alternativa rápida e de baixo custo para o preparo de amostras visando, principalmente, ao monitoramento dos teores de Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Pb e Zn em vegetais; de As, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, Se e Zn em tecidos animais e de As, Cd, Cu, Mn, Pb e Zn em solos e sedimentos.

Em geral, observa-se que a agitação ultrassônica diminui o tempo de extração e permite utilizar soluções ácidas mais diluídas, quando comparada aos métodos de agitação manual, mecânica, magnética, ou à agitação por efeito vortex, frequentemente utilizada nos laboratórios de análises químicas. Entretanto, a extração quantitativa depende fortemente da interação dos analitos com a matriz. Neste sentido, embora os métodos assistidos por ultrassom sejam promissores, é recomendável que

as variáveis que influenciam a extração dos analitos sejam empírica e rigorosamente avaliadas para diferentes tipos de amostras antes da utilização dessa estratégia.

Na Tabela 6.3 estão apresentadas as condições estabelecidas por Santos Jr. para a extração de diferentes elementos em amostras de tecido vegetal.[48] Os resultados apresentados servem como um ponto de partida para alcançar as condições ótimas para a determinação dos diferentes elementos avaliados em amostras de tecidos vegetais. Essa ressalva deve-se ao fato do período de tempo de sonicação e a concentração de ácidos poderem variar consideravelmente de amostra para amostra, bem como com o equipamento ultrassônico empregado. O mesmo autor estabeleceu também condições de partida para amostras de tecidos animais, além de solos e sedimentos.[48]

Novos avanços têm sido observados para a extração de espécies metálicas assistida por ultrassons em diferentes matrizes, destacando-se a otimização multivariada das condições de extração dos analitos.[49-56] Também são reportadas determinações de espécies metálicas por técnicas eletroanalíticas em procedimentos cujo preparo é assistido por ultrassons.[57-59]

6.4. DECOMPOSIÇÕES ASSISTIDAS POR ONDAS ULTRASSÔNICAS

As ondas ultrassônicas foram aplicadas inicialmente em métodos de análises de gases; na eletroquímica, para acelerar a deposição eletrolítica de íons metálicos presentes em solução e para a degaseificação de soluções. Além das aplicações destacadas neste capítulo, as ondas ultrassônicas também têm sido utilizadas para acelerar a dissolução de sólidos em solução ácida,[60] por vezes associada a sistemas de análises em fluxo.[61] Um exemplo da ação das bolhas de cavitação em procedimentos de decomposição é a dissolução dos produtos de reação que são formados na decomposição de minério de ferro pela ação de ácido fosfórico.[60] Em misturas de solventes com ácido fluorídrico a ação das bolhas de cavitação minimiza a formação de filmes superficiais insolúveis na interface solvente-soluto e facilita a penetração do ácido para o interior do sólido. Este procedimento pode ser usado com sucesso, por exemplo, na determinação de K_2O e FeO em rochas e minérios, assim como de CaO e MgO em fragmentos de vidros. A ação das bolhas de cavitação pode acelerar a interação entre fluoretos e o ácido bórico. Atenção especial também foi dada para

Tabela 6.3. Condições experimentais estabelecidas para a maximização da extração de Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Pb e Zn em amostras de tecidos vegetais com homogeneizador de 50 W (Vibracell VC50, Sonics and Materials) e banho de 90 W (Aquasonic 75D, VWR Scientific).

Variáveis	**Constituintes dos tecidos vegetais avaliados**										
Sonda	Al	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Mo	Pb	Zn
HNO_3 (mol L^{-1})	2,8	1,4	0,7	2,8	1,4	2,8	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
HCl (mol L^{-1})	2,4	-	-	2,4	-	2,4	-	-	1,2	-	-
Tempo (min)	20	10	5	20	10	10	10	5	10	5	5
Partícula (µm)	< 62	< 62	< 212	< 62	< 212	< 62	< 62	< 62	< 62	< 62	< 62
Extração (%) *	18-85	80-95	93-105	41-91	96-102	75-102	83-98	89-105	90-102	93-101	94-102
CV (%) **	6-9	6-11	3-8	5-12	4-7	5-12	3-11	2-8	3-7	2-9	2-6
Banho	Al	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Mo	Pb	Zn
HNO_3 (mol L^{-1})	2,8	1,4	1,4	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	1,4
HCl (mol L^{-1})	2,4	-	-	2,4	-	2,4	-	-	2,4	-	-
Tempo (min)	20	10	10	20	10	20	10	10	20	10	10
Partícula (µm)	< 62	< 62	< 212	< 62	< 62	< 62	< 62	< 62	< 62	< 62	< 62
Extração (%) *	11-65	75-97	90-98	46-71	91-99	48-85	72-99	78-101	75-105	91-105	87-96
CV (%) **	4-9	3-7	4-10	7-19	2-9	6-15	4-7	2-11	5-14	5-7	1-4

* faixa de extração e ** coeficientes de variação para as diferentes amostras.

rápida decomposição de fosfato de cálcio e para liberação de pentóxido de fósforo de apatitas magmáticas ou apatitas sedimentares e de superfosfatos.[60]

Alguns trabalhos utilizando ultrassom na etapa de digestão das amostras foram reportados na literatura[62-65] e quatro revisões foram publicadas,[66-69] destacando, entre outros temas, o emprego de ultrassom para o preparo de amostras. De todo modo, espera-se um avanço significativo no desenvolvimento de métodos assistidos por ultrassom para a próxima década.

REFERÊNCIAS

1. MASON, T. J.; LORIMER, J. P. **Applied sonochemistry: Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing**. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. 314 p.
2. SUSLICK, K. S. The chemical effects of ultrasound. **Scientific American**, 260, 80-86, 1989.
3. SUSLICK, K. S. Sonochemistry. **Science**, 247, 1439-1445, 1990.
4. SUSLICK, K. S.; DIDENKO, Y.; FANG, M. M.; HYEON, T.; KOLBECK, K. J.; MCNAMARA, W. B.; MDLELENI, M. M.; WONG, M. Acoustic cavitation and its chemical consequences. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A - Mathematical Physical and Engineering Sciences**, 357, 335-353, 1999.
5. CARVALHO, L. R. F.; SOUZA, S. R.; MARTINIS, B. S.; KORN. M. Monitoring of the ultrasonic irradiation effect on the extraction of airborne particulate matter by ion chromatography, **Analytica Chimica Acta**, 317, 171-179, 1995.
6. KORN, M.; BORGES, S. S.; MAIA, P. R. M.; LIMA, J. L. F. C.; LAPA, R. A. S. Reagent generation for chemical analysis assisted by ultrasonic irradiation. **Ultrasonics**, 42, 585-590, 2004.
7. KORN, M.; ANDRADE, M. V. A. S.; BORGES, S. S.; SOUSA, C. S.; OLIVEIRA, F. S. Reagent generation assisted by ultrasonic irradiation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 14, 254-258, 2003.
8. BLAKE, J. R. Acoustic cavitation and sonoluminescence. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, 357, 199-369, 1999.
9. CAPELO, J. L.; MADURO, C.; VILHENA, C. Discussion of parameters associated with the ultrasonic solid-liquid extraction for elemental analysis (total content) by electrothermal atomic absorption spectrometry. An overview. **Ultrasonics Sonochemistry**, 12, 225-232, 2005.
10. SMITH, F. E.; ARSENAULT, E. A. Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry. **Talanta**, 43, 1207-1268, 1996.

11. YOUNG, F. R. **Cavitation**. Maidenhead: McGraw Hill, 1989. 416 p.

12. CHEN, D.; SHARMA, S. K.; MUDHOO, A. **Handbook on Applications of Ultrasound: Sonochemistry for Sustainability**. Boca Raton: CRC Press, 2011. 739 p.

13. BLAKE, J. R.; BOULTON-STONE, J. M.; THOMAS, N. H. (Ed.) **Bubble dynamics and interface phenomena.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. 516 p.

14. MARGULIS, M. A. **Sonochemistry and cavitation**. Luxembourg: Gordon and Breach Science Publishers, 1995. 500 p.

15. CRUM, L. A.; MASON, T. J.; REISSE, J. L.; SUSLICK, K. S. (Ed.) **Sonochemistry and sonoluminescence.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. 166 p.

16. MASON, T. J.; PETERS, D. **Practical Sonochemistry: Power Ultrasound Uses and Applications.** 2ª ed, Cambridge: Woodhead Publishing, 2002.

17. SANTOS, C.; ALAVA-MORENO, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Total As in seafood as determined by transverse heated electrothermal atomic absorption spectrometry-longitudinal Zeeman background correction: An evaluation of automated ultrasonic slurry sampling, ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 15, 987-994, 2000.

18. WIBETOE, G.; TAKUWA, D.T.; LUND, W.; SAWULA, G. Coulter particle analysis used for studying the effect of sample treatment in slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 363, 46-54,1999.

19. MIERZWA, J.; ADELOJU, S. B.; DHINDSA, H. S. Ultrasound accelerated solid-liquid extraction for the determination of selenium in biological samples by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **Analytical Sciences**, 13, 189-193, 1997.

20. BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PINEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A. Factorial designs for Cd, Cr, Hg, Pb and Se ultrasound-assisted acid leaching from human hair followed by atomic absorption spectrometric determination. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 15, 121-130, 2000.

21. EL AZOUZI, H.; CERVERA, M. L.; DE LA GUARDIA, M. Multi-elemental analysis of mussel samples by atomic absorption spectrometry after room temperature sonication. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 533-538, 1998.

22. MINAMI, H.; HONJYO, T.; ATSUYA, I. A new solid-liquid extraction sampling technique for direct determination of trace elements in biological materials by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 51, 211-220, 1996.

23. BERMEJO-BARRERA, P.; MUNIZ-NAVEIRO, O.; MOREDA-PINEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A. The multivariate optimisation of ultrasonic bath-induced acid leaching for the determination of trace elements in seafood products by atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 439, 211-227, 2001.

24. SANTOS, W. C. **Contribuição para Avaliação da Influência do Tratamento Preliminar de Amostra sobre a Confiabilidade das Informações Analíticas.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia. Salvador. 2012.

25. LIMA, E. C.; BARBOSA, F.; KRUG, F. J.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R. Comparison of ultrasound-assisted extraction, slurry sampling and microwave-assisted digestion for cadmium, copper and lead determination in biological and sediment samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 15, 995-1000, 2000.

26. CAPELO, J. L.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Ultrasound-assisted extraction of cadmium from slurried biological samples for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 1285-1290, 1998.

27. DE LA CALLE, I.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Ultrasound-assisted extraction of antimony and cobalt from inorganic environmental samples using a cup-horn sonoreactor prior to their determination by electrothermal-atomic absorption spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 91, 1401-1411, 2011.

28. TEIXEIRA, L. S.; VIEIRA, H. P.; WINDMOLLER, C. C.; NASCENTES, C. C. Fast determination of trace elements in organic fertilizers using a cup-horn reactor for ultrasound-assisted extraction and fast sequential flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 119, 232-239, 2014.

29. CANEPARI, S.; CARDARELLI, E.; GHIGHI, S.; SCIMONELLI, L. Ultrasound and microwave-assisted extraction of metals from sediment: a comparison with the BCR procedure. **Talanta**, 66, 1122-1130, 2005.

30. DAVIDSON, C. M.; DELEVOYE, G. Effect of ultrasonic agitation on the release of copper, iron, manganese and zinc from soil and sediment using the BCR three stage sequential extraction. **Journal of Environmental Monitoring**, 3, 398-403, 2001.

31. DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Application of ultrasound-assisted acid leaching procedure for major and trace elements determination in edible seaweed by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Talanta**, 66, 937-942, 2005.

32. NASCENTES, C. C.; KORN, M.; ARRUDA, M. A. Z. A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables. **Microchemical Journal**, 69, 37-43, 2001.

33. YEBRA-BIURRUN, M. C.; MORENO-CID, A.; CANCELA-PÉREZ, S. Fast on-line ultrasound-assisted extraction coupled to a flow injection-atomic absorption spectrometric system for zinc determination in meat samples. **Talanta**, 66, 691-695, 2005.

34. BALARAMA KRISHNA, M. V.; MANJUSHA RANJIT, D.; KARUNASAGAR, D.; ARUNACHALAM, J. A rapid ultrasound-assisted thiourea extraction method for the determination of inorganic and methyl mercury in biological and environmental samples by CVAAS. **Talanta**, 67, 70-80, 2005.

35. HUERGA, A.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Speciation of the immediately mobilisable As(III), As(V), MMA and DMA in river sediments by high performance liquid chromatography–hydride generation–atomic fluorescence spectrometry following ultrasonic extraction. **Analytica Chimica Acta**, 534, 121–128, 2005.

36. YEBRA-BIURRUN, M. C.; CANCELA-PÉREZ, S.; MORENO-CID-BARINAGA, A. Coupling continuous ultrasound-assisted extraction, preconcentration and flame atomic absorption spectrometric detection for the determination of cadmium and lead in mussel samples. **Analytica Chimica Acta**, 533, 51-56, 2005.

37. MELO, M. H. A.; COSTA, A. C. S.; NÓBREGA, J. A.; FERREIRA, S. L. C. The use of water soluble tertiary amine reagent for solubilization and metal determination in fish muscle tissue. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 16, 69-73, 2005.

38. LÓPEZ-GARCÍA, I.; CAMPILLO, N.; ARNAU-JEREZ, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of germanium in soils using ultrasound-assisted leaching. **Analytica Chimica Acta**, 531, 125–129, 2005.

39. CABAÑERO, A. I.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Enzymatic probe sonication extraction of Se in animal-based food samples: a new perspective on sample preparation for total and Se speciation analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 381, 373–379, 2005.

40. CAPELO, J. L.; FILGUEIRAS, A. V.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Solid-liquid extraction of copper from slurried samples using high intensity probe sonication for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 50, 905-911, 1999.

41. BERMEJO-BARRERA, P.; MUÑIS-NAVEIRO, O.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A. Experimental designs in the optimisation of ultrasonic bath-acid-leaching procedures for the determination of trace elements in human hair samples by atomic absorption spectrometry. **Forensic Science International**, 107, 105-120, 2000.

42. LIVA, M.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; CÁMARA, C. Determination of Cd in sonicate slurries and leachates of biological and environmental materials by FI-CV-AAS. **Talanta**, 51, 381-387, 2000.

43. SANTOS, F. C.; ALAVA-MORENO, F.; LAVILLA, I. BENDICHO, C. Total As in seafood as determined by transverse heated electrothermal atomic absorption spectrometry--longitudinal Zeeman background correction: An evaluation of automated ultrasonic slurry sampling, ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 15, 987-994, 2000.

44. RÍO-SEGADE, S.; BENDICHO, C. Ultrasound-assisted extraction for mercury speciation by the flow injection cold vapor technique. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 14, 263-268,1999.

45. FILGUEIRAS, A. V.; CAPELO, J. L.; LAVILA, I. BENDICHO, C. Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, 53, 433-441, 2000.

46. PÉREZ-CID, B.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Speeding up of a three-stage sequential extraction method for metal speciation using focused ultrasound. **Analytica Chimica Acta**, 360, 35-41, 1998.

47. CAPELO, J. L.; LAVILLA, I. BENDICHO, C. Ultrasonic extraction followed by sonolysis-ozonolysis as a sample pretreatment method for determination of reactive arsenic toward sodium tetrahydroborate by flow injection-hydride generation AAS. **Analytical Chemistry**, 73, 3732-3736, 2001.

48. SANTOS JR, D. **Avaliação da extração ultrassônica para determinação de elementos em materiais de interesse agronômico e ambiental por espectrometria de emissão** óptica **com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.** 2005. 121 p. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. 2005.

49. CAPELO, J. L; MADURO C.; MOTA A. M. Evaluation of focused ultrasound and ozonolysis as sample treatment for direct determination of mercury by FI-CV-AAS. Optimization of parameters by full factorial design. **Ultrasonics Sonochemistry**, 13, 98-106, 2006.

50. JALBANI, N.; KAZI, T. G.; ARAIN, B. M.; JAMALI, M. K.; AFRIDI, H. I.; SARFRAZ, R. A. Application of factorial design in optimization of ultrasonic-assisted extraction of aluminum in juices and soft drinks. **Talanta**, 70, 307-314, 2006.

51. SALGADO, S. G.; NIETO, M. A. Q.; SIMON, M. M. B. Optimisation of sample treatment for arsenic speciation in alga samples by focused sonication and ultrafiltration. **Talanta**, 68, 522-1527, 2006.

52. de SOUZA, R. M.; SARACENO, A. L.; DUYCK, C.; da SILVEIRA, C. L. P; AUCELIO, R. Q. Determination of Fe, Ni and V in asphaltene by ICP OES after extraction into aqueous solutions using sonication or vortex agitation. **Microchemical Journal**, 87, 99-103. 2007.

53. JALBANI, N.; KAZI, T. G.; JAMALI, M. K.; ARAIN, M. B.; AFRID, H. I.; SHEERAZI, S.T.; ANSARI, R. Application of fractional factorial design and Doehlert matrix in the optimization of experimental variables associated with the ultrasonic-assisted acid digestion of chocolate samples for aluminum determination by atomic absorption spectrometry. **Journal of AOAC International**, 90, 1682-1688, 2007.

54. ARAIN, M. B.; KAZI, T. G.; JAMALI, M. K.; AFRIDI, H. I.; JALBANI, N.; MEMON, A. R. Ultrasound-assisted pseudodigestion for toxic metals determination in fish muscles followed by electrothermal atomic absorption spectrophotometry: Multivariate strategy. **Journal of AOAC International**, 90, 1118-1127, 2007.

55. de SOUZA, R. M.; SARACENO, A. L.; da SILVEIRA, C. L. P.; AUCELIO, R. Q. Determination of trace elements in crude oil by ICP OES using ultrasound-assisted acid extraction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 21, 1345-1349, 2006.

56. CESPON-ROMERO, R. M.; YEBRA-BIURRUN, M. C. Flow injection determination of lead and cadmium in hair samples from workers exposed to welding fumes. **Analytica Chimica Acta**, 600, 221-225, 2007.

57. MUNOZ, R. A. A.; OLIVEIRA, P. V.; ANGNES, L. Combination of ultrasonic extraction and stripping analysis: An effective and reliable way for the determination of Cu and Pb in lubricating oils. **Talanta**, 68, 850-856, 2006.

58. MUNOZ, R. A. A.; KOLBE, M.; SILOTO, R. C.; OLIVEIRA, P. V.; ANGNES, L. Ultrasound-assisted treatment of coconut water samples for potentiometric stripping determination of zinc. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 18, 410-415, 2007.

59. CYPRIANO, J. C.; MATOS, M. A. C.; MATOS, R. C. Ultrasound-assisted treatment of palm oil samples for the determination of copper and lead by stripping chronopotentiometry. **Microchemical Journal**, 90, 26-30, 2008.

60. SULCEK, Z.; POVONDRA, P. **Methods of decomposition in inorganic analysis.** Boca Raton: CRC Press, 1989. 325 p.

61. YEBRA, M. C. A Green analytical method using ultrasound in sample preparation for the flow injection determination of iron, manganese, and zinc in soluble solid samples by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, 2012, 1-5, 2012

62. ILANDER, A.; VAISANEN, A. An ultrasound-assisted digestion method for the determination of toxic element concentrations in ash samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta,** 602, 195-201, 2007.

63. CESPON-ROMERO, R. M.; YEBRA-BIURRUN, M. C. Determination of trace metals in urine with an on-line ultrasound-assisted digestion system combined with a flow-injection preconcentration manifold coupled to flame atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta,** 609, 184-191, 2008.

64. de OLIVEIRA, R. M.; ANTUNES, A. C. N.; VIEIRA, M. A.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of sample preparation methods for the determination of As, Cd, Pb, and Se in rice samples by GFAAS. **Microchemical Journal**, 124, 402-409 , 2016.

65. NIU, J. J.; RASMUSSEN, P. E.; CHENIER, M. Ultrasonic dissolution for ICP-MS determination of trace elements in lightly loaded airborne PM filters. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 93, 661-678, 2013.

66. PRIEGO-CAPOTE, F.; de CASTRO, L. Ultrasound-assisted digestion: a useful alternative in sample preparation. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, 70, 299-310, 2007.

67. SANTOS JR, D.; KRUG, F. J.; PEREIRA, M. D.; KORN, M. Currents on ultrasound-assisted extraction for sample preparation and spectroscopic analytes determination. **Applied Spectroscopy Reviews**, 41, 305-321, 2006.

68. SANTOS, H. M; CAPELO, J. L. Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment. **Talanta**, 73, 795-802, 2007.

69. CAPOTE, F. P; de CASTRO, M. D. L. Ultrasound in analytical chemistry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 387, 249-257, 2007.

Capítulo 7

SOLUBILIZAÇÃO E DECOMPOSIÇÃO DE SÓLIDOS INORGÂNICOS

Francisco José Krug
Joaquim Araújo Nóbrega
Marcelo Braga Bueno Guerra
Fábio Rodrigo Piovezani Rocha
Telma Blanco Matias

7.1. INTRODUÇÃO

A maioria das técnicas analíticas utilizadas para determinações de elementos em amostras inorgânicas requer que a amostra esteja na forma de uma solução. Em geral, é correto afirmar que a maioria das técnicas analíticas apresenta melhor desempenho com soluções aquosas. Além disso, as amostras na forma de soluções são mais versáteis do que na forma de sólidos, pois as curvas analíticas de calibração podem ser obtidas com soluções de referência de fácil preparação, as diluições são simples e a separação de constituintes com ou sem pré-concentração é possível.

Por outro lado, existem dificuldades para o preparo de soluções das amostras, uma vez que a maioria dos materiais inorgânicos é pouco solúvel em água ou outros solventes e somente podem ser dissolvidos aplicando-se condições químicas drásticas. Não obstante, é conveniente recordar que algumas técnicas analíticas:

- requerem as amostras na forma de soluções, como as clássicas (volumetria e gravimetria), espectroanalíticas (*e.g.* espectrometrias de absorção molecular, e de fluorescência atômica ou molecular), eletroanalíticas (*e.g.* voltametria, amperometria e potenciometria), além das técnicas de separação. Deve-se, também, lembrar que pequenas alterações na distribuição dos elementos nas amostras originais são eliminadas após a conversão das amostras em soluções;
- são aplicáveis às amostras sólidas ou líquidas, tais como análise por ativação neutrônica instrumental (INAA), espectrometria de fluorescência de raios X (XRF), espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS);
- requerem as amostras na forma sólida, como espectrometria de emissão óptica com arco, faísca, ablação com *laser* acoplada à ICP OES ou à ICP-MS e aquelas baseadas em reações de combustão, por exemplo.

Aqui é necessário distinguir os termos dissolução e abertura de amostras, conforme sugerem Bock[1] e Anderson.[2] *Dissolução* significa que a amostra sólida, líquida ou gasosa é dissolvida em solventes adequados sob baixas temperaturas.[1] No presente capítulo, dedicado ao pré-tratamento de materiais sólidos

inorgânicos, dissolução corresponde à transformação direta da amostra em uma solução, envolvendo ou não uma reação química.[2] Isso pode ser exemplificado pelo tratamento de uma amostra de ferro-silício com uma mistura de HNO_3 e HF. A solução é levada à secura e o resíduo é dissolvido com HNO_3 e H_2O_2, dando origem a uma solução límpida. *Abertura* significa converter a amostra em outra forma sólida, com transformação química,[2] de forma que o sólido resultante seja facilmente solúvel em solução aquosa. Usualmente, a abertura envolve a transformação química da amostra sob altas temperaturas.[1] Como exemplo, uma amostra de silicato insolúvel é aquecida com um excesso de Na_2CO_3 até a fusão da mistura, gerando um produto claro. Esse se solidifica após resfriamento, mas é prontamente dissolvido em solução de ácido clorídrico diluído.

Cumpre observar que não se costuma fazer uma distinção rígida entre os termos dissolução e abertura. Os termos solubilização e decomposição, também empregados, correspondem aos termos dissolução e abertura, respectivamente. Não obstante, o termo digestão de amostras, empregado para materiais orgânicos, também é usado, indiscriminadamente, para decomposição de outros materiais. Neste capítulo, o termo dissolução será empregado invariavelmente. Assim, de um modo geral, os procedimentos de dissolução de amostras inorgânicas podem ser agrupados em:

- dissolução direta em água ou solução aquosa sem mudança química;
- dissolução em ácido, ou mistura de ácidos, com reação química (*e.g.* mudança no estado de oxidação do elemento a ser determinado);
- dissolução após fusão da amostra com fundente apropriado, envolvendo reações químicas.

As dissoluções sem reação química são menos usuais, mas diversos materiais podem ser analisados após a dissolução direta em água ou em solução ácida diluída. Isso ocorre, por exemplo, na análise de fertilizantes solúveis em água.

7.2. CRITÉRIOS PARA A ESCOLHA DO PROCEDIMENTO DE DISSOLUÇÃO

Antes de se proceder à descrição dos diferentes métodos para a dissolução de materiais, é interessante ressaltar que um método de dissolução ideal deve:

i) dissolver a amostra completamente, *i.e.* sem deixar nenhum resíduo sólido;
ii) ser razoavelmente rápido ou apresentar capacidade de processamento de amostras compatível com o método de determinação;
iii) utilizar somente reagentes que não irão interferir na determinação do analito e/ou na separação dos constituintes de interesse. Caso contrário, os reagentes deverão ser facilmente removíveis da solução da amostra;
iv) utilizar somente reagentes disponíveis em alto grau de pureza para não contaminar as amostras;
v) evitar perdas dos analitos por volatilização, formação de aerossóis, adsorção e/ou absorção nas paredes dos frascos de reação;
vi) evitar o ataque químico dos reagentes e amostra ao recipiente no qual será promovida a reação;
vii) minimizar as contaminações devidas ao ambiente;
viii) apresentar mínima insalubridade e periculosidade;
ix) possibilitar que a solução final contenha todos os analitos.

Antes de decidir sobre o método de dissolução a ser utilizado, é conveniente verificar se este atende a todos ou alguns dos seguintes critérios:

(a) Abrangência do método: número de materiais diferentes e de elementos a serem determinados por amostra. Deve-se também avaliar se a relação massa/volume (diluição) é adequada para a determinação analítica subsequente;
(b) Duração da dissolução: vários procedimentos envolvem reações químicas lentas; o uso de amostras finamente moídas facilita a dissolução;
(c) Natureza da solução final e possibilidade de remoção de excesso de reagentes;
(d) Materiais usados para a dissolução;
(e) Pureza dos reagentes;
(f) Riscos de perdas por volatilização;
(g) Aspectos associados à segurança, tais como possibilidade de queimaduras com HF; explosões que podem ocorrer quando $HClO_4$ é utilizado; geração de vapores tóxicos de ácidos voláteis e de produtos gasosos (H_2S, SO_2, Cl_2 e NO_2); fusões sob temperaturas elevadas; decomposição em sistemas fechados sob pressões elevadas, cujo monitoramento requer transdutores de pressão e temperatura. Aspectos de segurança no preparo de amostras são discutidos mais detalhadamente no Capítulo 14.

7.3. MÉTODOS DE DISSOLUÇÃO EM ÁCIDOS

Em muitos casos, o tratamento com ácidos não leva à dissolução quantitativa das amostras, especialmente quando essas contêm silicatos. Assim, o tratamento ácido pode implicar em uma dissolução seletiva; a escolha depende da composição da amostra e suas propriedades, forma química e concentração do elemento a ser determinado. Para maiores detalhes, recomenda-se a leitura do material disponível em www.sampleprep.duq.edu/sampleprep/.

7.3.1. Ácidos diluídos

Quando uma amostra for insolúvel em água, ou os íons metálicos provenientes da dissolução tendam a hidrolisar em soluções neutras, a alternativa mais simples é a dissolução com um ácido mineral diluído. A maioria dos metais mais eletropositivos que o hidrogênio, muitos óxidos simples, carbonatos e sulfatos são solúveis em ácidos diluídos. A dissolução envolve a reação entre a amostra e o ácido, formando um sal solúvel do metal. Entretanto, conforme discutido no Capítulo 2, alguns metais, como Al, Cr, Mo e W, podem ser passivados durante a dissolução, pela formação de uma película insolúvel dos seus óxidos, impedindo o ataque ácido.

A dissolução de muitas amostras pode ser feita à frio, mas aquecimento pode ser aplicado, quando necessário. Em alguns casos, o uso de ácidos diluídos é recomendado para um ataque preliminar da amostra.

No processo de dissolução, normalmente, o interesse está na determinação do íon metálico. A conversão do ânion em uma forma volátil, como CO_2 e H_2S, por exemplo, é conveniente na maioria das aplicações.

Para que ocorra a dissolução do metal, o potencial de redução de uma das espécies químicas fornecida pelo ácido (ânion ou H^+) deve ser maior que o potencial de redução do metal. A Tabela 7.1 mostra alguns potenciais padrão de eletrodo para íons metálicos (convencionalmente mostram-se as reações padrão de eletrodo como reduções). Um potencial padrão positivo significa que o metal é mais eletronegativo que o hidrogênio. O ouro é o mais eletronegativo dos metais e, mesmo o uso de um ácido oxidante concentrado, como o HNO_3, não é suficiente para convertê-lo em um íon. Nesse caso, um agente oxidante mais poderoso é necessário, o que será discutido mais adiante. Deve-se também considerar que ácidos diluídos podem

originar um sal insolúvel (*e.g.* precipitações de prata como cloreto e de bário como sulfato). No caso da prata, pode-se usar solução de HNO_3. Carbonato de bário é dissolvido em ácidos clorídrico ou nítrico diluídos. Alguns exemplos de reações de substâncias inorgânicas com ácidos diluídos são:

(a) $Zn_{(s)} + 2\ HCl_{(aq)} \rightarrow Zn^{2+}_{(aq)} + 2\ Cl^{-}_{(aq)} + H_{2(g)}$

(b) $MgO_{(s)} + 2\ HCl_{(aq)} \rightarrow Mg^{2+}_{(aq)} + 2\ Cl^{-}_{(aq)} + H_2O_{(l)}$

(c) $CaCO_{3(s)} + 2\ HCl_{(aq)} \rightarrow Ca^{2+}_{(aq)} + 2\ Cl^{-}_{(aq)} + H_2O_{(l)} + CO_{2(g)}$

(d) $FeS_{(s)} + 2\ HCl_{(aq)} \rightarrow Fe^{2+}_{(aq)} + 2\ Cl^{-}_{(aq)} + H_2S_{(g)}$

(e) $BaCO_{3(s)} + H_2SO_{4(aq)} \rightarrow BaSO_{4(s)} + H_2O_{(l)} + CO_{2(g)}$

(f) $Cu_{(s)} + 4\ HNO_{3(aq)} \rightarrow Cu^{2+}_{(aq)} + 2\ NO_3^{-}{}_{(aq)} + 2\ NO_{2(g)} + 2\ H_2O_{(l)}$

Tabela 7.1. Potenciais padrão de redução para alguns íons (adaptada de Anderson,1991[2]).

Semi-reação	Potencial padrão (V)
$Au^{3+}_{(aq)} + 3e^- \rightleftharpoons Au_{(s)}$	+1,50
$Pt^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Pt_{(s)}$	+1,12
$Ag^{+}_{(aq)} + e^- \rightleftharpoons Ag_{(s)}$	+0,80
$Hg^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Hg_{(l)}$	+0,80
$Cu^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Cu_{(s)}$	+0,34
$H^{+}_{(aq)} + e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\ H_{2\,(g)}$	0,00
$Pb^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Pb_{(s)}$	-0,13
$Sn^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Sn_{(s)}$	-0,14
$Ni^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Ni_{(s)}$	-0,26
$Co^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Co_{(s)}$	-0,28
$Tl^{+}_{(aq)} + e^- \rightleftharpoons Tl_{(s)}$	-0,34
$Cd^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Cd_{(s)}$	-0,40
$Fe^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Fe_{(s)}$	-0,45
$Cr^{3+}_{(aq)} + 3e^- \rightleftharpoons Cr_{(s)}$	-0,74
$Zn^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Zn_{(s)}$	-0,76
$Mn^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Mn_{(s)}$	-1,18
$Al^{3+}_{(aq)} + 3e^- \rightleftharpoons Al_{(s)}$	-1,66
$Mg^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Mg_{(s)}$	-2,37
$Na^{+}_{(aq)} + e^- \rightleftharpoons Na_{(s)}$	-2,71
$Ca^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons Ca_{(s)}$	-2,87
$K^{+}_{(aq)} + e^- \rightleftharpoons K_{(s)}$	-2,93

7.3.2. Ácidos minerais concentrados

Muitos materiais resistentes à dissolução em ácidos diluídos, incluindo os metais mais eletronegativos, muitas ligas metálicas e minerais comuns, solos, rochas, argilas, especialmente os aluminatos e silicatos, devem ser dissolvidos com ácidos minerais concentrados sob aquecimento. Na prática, um dos seguintes procedimentos de pré-tratamento poderá ser adotado:

- levar a mistura à ebulição com refluxo;
- levar a mistura à ebulição e deixar o ácido evaporar até quase à secura;
- aquecer a mistura em sistema fechado.

Nesse pré-tratamento, as seguintes propriedades dos ácidos devem ser consideradas:[2]

(i) A força do ácido;
(ii) O ponto de ebulição (máxima temperatura alcançada em frascos abertos);
(iii) Poder oxidante do ácido e/ou de seus produtos de decomposição;
(iv) Poder complexante com respeito aos íons de interesse (propriedade do ânion);
(v) A solubilidade dos sais correspondentes;
(vi) Grau de pureza e/ou facilidade de purificação;
(vii) Aspectos relacionados à segurança durante a manipulação.

7.3.3. Propriedades dos ácidos minerais mais comuns

(a) Ácido clorídrico

O ácido clorídrico concentrado contém aproximadamente 12 mol L^{-1}. Quando aquecido à ebulição, HCl gasoso é liberado e o ponto de ebulição aumenta até 109 °C, quando ocorre a formação de uma mistura azeotrópica* (6 mol L^{-1} HCl). O HCl é um ácido forte, mas não apresenta propriedades oxidantes além daquelas associadas ao íon H^+. Pelo contrário, possui propriedades redutoras relativamente

*Uma mistura azeotrópica é uma mistura de líquidos que, no seu ponto de ebulição, produz um vapor de composição química idêntica à do líquido. Nessa situação, durante a ebulição não ocorre mudança na composição da mistura. O ponto de ebulição de uma mistura azeotrópica, a uma pressão fixa, permanece constante. Consequentemente, os componentes individuais de uma mistura azeotrópica não podem ser separados por destilação.

fracas durante a dissolução. O íon cloreto forma complexos fortes com vários íons metálicos, especialmente Au^{3+}, Tl^{3+} e Hg^{2+}, e complexos mais fracos com Fe^{3+}, Ga^{3+}, In^{3+} e Sn^{4+}, por exemplo, auxiliando na dissolução de alguns materiais.

A maioria dos cloretos metálicos é solúvel em água, exceto Hg_2Cl_2, AgCl e TlCl, enquanto $PbCl_2$ é pouco solúvel à frio, mas solúvel à quente. A solubilidade do cloreto de prata aumenta pela complexação da prata com excesso de íons cloreto:[2]

$$Ag^{+}_{(aq)} + Cl^{-}_{(aq)} \rightleftharpoons AgCl_{(s)};\ \log K_1 = 3{,}04$$
$$AgCl_{(s)} + Cl^{-}_{(aq)} \rightleftharpoons AgCl_2^{-}{}_{(aq)};\ \log K_2 = 5{,}04$$

Assim, a concentração de prata dissolvida em uma solução 1 mol L^{-1} HCl é de, apenas, 8 mg L^{-1}, mas aumenta para 130 mg L^{-1} em 3 mol L^{-1} HCl.

O HCl é usado para dissolver a maioria dos metais mais eletropositivos que o hidrogênio, além dos seus óxidos e hidróxidos. É também usado para dissolver boratos, carbonatos, sulfetos e fosfatos, assim como alguns silicatos, embora as espécies contendo Si não permaneçam estáveis em solução. Para a dissolução de muitos metais e óxidos, o ácido clorídrico é mais eficiente que ácidos minerais oxidantes.

(b) Ácido nítrico

O ácido nítrico concentrado varia de 65 a 69% (m/m) HNO_3 e aquele com teor maior que 69% (m/m) é denominado "ácido nítrico fumegante". Uma mistura azeotrópica com água é formada a 67% (m/m) com ponto de ebulição de aproximadamente 121 ºC, embora seja possível obter HNO_3 100%, cujo ponto de ebulição é de 83 ºC. O ácido mais concentrado é instável, decompondo-se pela ação da luz e produzindo O_2, H_2O e NO_2, esse último sendo responsável pela cor marrom das soluções ácidas.

O HNO_3 é um ácido forte e um agente oxidante bastante poderoso. Com exceção dos metais nobres, ele pode oxidar todos os metais, mas muitos elementos, como Al, B, Cr, Ga, Hf, In, Nb, Ti, Ta, Th e Zr tornam-se passivos na presença do ácido. Cálcio, Mg e Fe são passivados pelo ácido concentrado, mas são dissolvidos em soluções mais diluídas. Outros elementos que são dissolvidos incluem As, Se, Te e os semicondutores CdTe e GaSe. O potencial padrão de redução do íon nitrato em meio ácido é de 0,957 V, conforme a seguinte semiequação:

$$NO_{3\,(aq)}^{-} + 4\,H^{+}_{(aq)} + 3\,e^{-} \rightleftharpoons NO_{(g)} + 2\,H_2O_{(l)}$$

Quase todos os nitratos são solúveis em água (ver Capítulo 2), mas o íon nitrato é um complexante fraco. Isso implica na hidrólise de alguns íons metálicos em meio de ácido nítrico, precipitando como óxidos hidratados, como Sb, Sn e W. Esse processo pode ser explorado beneficamente para separar esses metais por filtração dos precipitados correspondentes.

(c) Ácido sulfúrico

O ácido sulfúrico concentrado comercial contém, aproximadamente, 98% (m/m) H_2SO_4. O ponto de ebulição de 339 ºC é alcançado no sistema água-ácido sulfúrico a 98,3% (m/m) H_2SO_4. Essa é a temperatura de ebulição mais alta dentre os ácidos minerais concentrados mais comuns, o que confere uma das principais vantagens do ácido sulfúrico no preparo de amostras: viabilizar processos de dissolução sob elevadas temperaturas, mesmo em frascos abertos.

O ácido sulfúrico é um ácido forte e, quando aquecido, é capaz de oxidar um grande número de metais, além de também possuir ação desidratante. Quase todos os compostos orgânicos são parcialmente, ou mesmo totalmente, destruídos pelo ácido concentrado à quente. O potencial padrão de redução do íon sulfato em meio ácido é de 0,172 V, conforme a seguinte semiequação, porém esse aumenta significativamente com a temperatura:

$$SO_4^{2-}{}_{(aq)} + 4\,H^{+}_{(aq)} + 2\,e^{-} \rightleftharpoons H_2SO_{3\,(aq)} + H_2O_{(l)}$$

Os sulfatos de metais são, em sua maioria, solúveis em água, exceto $CaSO_4$ (levemente solúvel), $BaSO_4$, $SrSO_4$ e $PbSO_4$. Dessa forma, o H_2SO_4 não é recomendado para a dissolução de amostras com teores elevados desses elementos. Além disso, vários metais em estados de oxidação elevados (Cr^{3+}, Al^{3+}, terras raras) podem formar sulfatos duplos com potássio, os quais são difíceis de serem solubilizados. Não obstante, os sulfatos metálicos apresentam como vantagem a baixa volatilidade. Assim, pode-se levar a mistura à secura, desde que o ácido sulfúrico esteja presente em excesso.

O ácido sulfúrico é utilizado para dissolver óxidos, hidróxidos, carbonatos, vários minérios (*e.g.* sulfetos e arsenitos) e vários outros compostos. Alguns óxidos

podem ser convertidos em sulfatos solúveis por aquecimento com ácido pouco concentrado. TiO_2 requer aquecimento com 85% (m/m) H_2SO_4 e minérios de tório, nióbio e tântalo (samarsquita) requerem H_2SO_4 concentrado.

O ácido sulfúrico também é usado para a remoção de HF e/ou solubilização de fluoro-complexos, quando é comum a expressão "aquecendo até fumos do ácido sulfúrico". Os fluoretos de metais reagem com H_2SO_4, promovendo a liberação do HF e a formação dos sulfatos metálicos correspondentes. Essa remoção é recomendada tanto após a decomposição de amostras com HF, como na análise de minérios contendo flúor.

(d) Ácido perclórico

O ácido perclórico e a água formam um azeótropo com 72% (m/m) $HClO_4$, com ponto de ebulição de 203 ºC, conhecido como ácido perclórico concentrado. A mistura azeotrópica pode ser armazenada sem perigo e pode ser purificada por destilação. O ácido contendo 100% $HClO_4$ é um oxidante perigosíssimo, pois se decompõe em repouso, no início lentamente, mas pode explodir depois de certo tempo.

Quando soluções contendo acima de 72% (m/m) do ácido são aquecidas, o ácido perclórico se decompõe em cloro, oxigênio e água:

$$4\ HClO_4 \rightarrow 2\ Cl_2 + 7\ O_2 + 2\ H_2O$$

O ácido perclórico é empregado a 60-72% (m/m). Quando aquecido, torna-se um agente oxidante poderoso, capaz de dissolver ligas metálicas e todos os metais (exceto os metais nobres). O potencial padrão de redução do íon perclorato em meio ácido é de 1,389 V, conforme a seguinte semiequação:

$$ClO_{4\ (aq)}^{-} + 8\ H_{(aq)}^{+} + 8\ e^{-} \rightleftharpoons Cl_{(aq)}^{-} + 4\ H_2O_{(l)}$$

Todos os percloratos são prontamente solúveis em água, exceto $KClO_4$, $RbClO_4$ e $CsClO_4$. Uma das propriedades mais importantes do $HClO_4$ deriva do fato do íon perclorato ser o agente complexante mais fraco dentre os ânions dos ácidos minerais mais comuns. Isso é importante, por exemplo, no caso de detecção voltamétrica.

Não metais também reagem com o ácido perclórico. Uma das aplicações é a oxidação do fósforo, e muitos de seus compostos, a fosfato. Na dissolução de aços e outras ligas ferrosas, o ácido silícico formado é rapidamente desidratado, gerando um sólido de fácil filtração.

Contudo, em muitas aplicações utilizando o ácido perclórico, existe o perigo imprevisível de explosão* face ao seu elevado poder oxidante, quando empregado na forma concentrada e aquecida. Esse risco é maior quando a concentração do ácido excede 72% (m/m), ou quando o ácido à quente é colocado em contato com material facilmente oxidável. Dessa forma, algumas regras devem ser observadas na manipulação do $HClO_4$:

(i) nunca usar o ácido mais concentrado que 72% (m/m);

(ii) nunca deixar que o ácido concentrado à quente entre em contato direto com materiais facilmente oxidáveis (por exemplo, cuidado com amostras contendo óleos ou graxas);

(iii) não utilizar capelas de exaustão com superfícies expostas construídas com material orgânico não recomendado (com batentes de madeira, por exemplo);

(iv) não armazenar o ácido em frascos com tampa de borracha;

(v) lavar o papel de filtro com bastante água após seu uso com soluções contendo ácido perclórico. Caso contrário, há o risco de explosão quando estiver seco;

(vi) lavar com água os locais onde o ácido possa ter entrado em contato, como o piso da capela, que deve ser preferivelmente de cerâmica.

(e) Ácido fluorídrico

O ácido fluorídrico forma uma mistura azeotrópica com água contendo 36% (m/m) HF, com ponto de ebulição de 111 ºC. É um ácido fraco em água, não oxidante, cuja reatividade se baseia na sua natureza complexante. Soluções aquosas a 38-40% (m/m) e aproximadamente 48% (m/m) são encontradas comercialmente.

O íon fluoreto é o mais poderoso ânion complexante dos ácidos de uso comum no preparo de amostras, formando fluoro-complexos com muitos elemen-

*Ver, por exemplo, descrição de mais de 30 casos de explosões violentas no "Handbook of Laboratory Safety". 2ª ed. Boca Raton: CRC, 1971. 854p.

tos. Reage especialmente com aqueles elementos que formam óxidos refratários, os quais são difíceis de serem dissolvidos. O HF aumenta a solubilidade e a estabilidade em solução de alguns elementos como Hf, Nb, Si, Sn, Ta, Ti e Zr. O HF é utilizado principalmente para a dissolução de materiais contendo silicatos:

$$SiO_2 + 6\ HF \rightarrow H_2SiF_6 + 2\ H_2O$$

O ácido fluorosilícico pode ser separado da matriz na forma de SiF_4 gasoso, promovendo sua dissociação à quente em sistema aberto com ácido sulfúrico, nítrico ou perclórico:

$$H_2SiF_6 \rightarrow SiF_4 + 2\ HF$$

O restante da matriz permanece em solução, com algumas exceções como mostra a Tabela 7.2. Nos casos em que se deseja evitar perdas de As, B, Cr, Ge, Os, Re, Ru, Se e Sb, por exemplo, sistemas de destilação apropriados devem ser utilizados. Quando se usa ácido fluorídrico, algumas precauções devem ser tomadas:

(i) vidraria não pode ser utilizada, porque o HF reage com o óxido de silício que faz parte da composição dos vidros. Podem-se utilizar materiais de platina (mesmo sob alta temperatura) ou PTFE (até 220 ºC), polipropileno (até 135 ºC), policarbonato (até 110 ºC), polietileno de baixa densidade (até 80 ºC) e outros polímeros;

(ii) Frequentemente, faz-se necessária a separação de todo o fluoreto que estiver na forma de complexos (o ânion $[AlF_6]^{3-}$, por exemplo, é estável e não se comporta em solução como o cátion Al^{3+}) e/ou para ressolubilizar os fluoretos insolúveis (CaF_2, MgF_2, $NaAlF_4$, $MgAlF_5$, por exemplo), além do próprio HF que está em excesso. Essa separação normalmente ocorre na forma de SiF_4, conforme mencionado anteriormente. Mascaramento de íons fluoreto com ácido bórico também é recomendado, quando há incompatibilidade com o método de determinação do analito de interesse. A reação do ácido bórico com ácido fluorídrico ocorre em um processo com duas etapas:

$$H_3BO_3 + 3\ HF \rightleftharpoons HBF_3(OH) + 2\ H_2O$$
$$HBF_3(OH) + HF \rightleftharpoons HBF_4 + H_2O$$

Para aumentar a velocidade da reação, recomenda-se adicionar ácido bórico em excesso (10 a 50 vezes);

(iii) o ácido fluorídrico, quando em contato com a pele, pode causar seríssimas queimaduras. A manipulação desse, assim como dos outros ácidos concentrados, deve ser feita atendendo a todas as normas de segurança, incluindo máscaras faciais e luvas. Nos primeiros socorros para queimadura de pele com ácido fluorídrico, recomenda-se o uso de gel de gluconato de cálcio. Aspectos de segurança no preparo de amostras são discutidos mais detalhadamente no Capítulo 14.

Tabela 7.2. Pontos de ebulição de fluoretos voláteis.[3]

Composto	Temperatura (°C)
AsF_3	- 63
AsF_5	- 53
BF_3	- 99,9
GeF_4	- 37 (sublima)
NbF_5	236
SbF_3	319
SbF_5	149,9
SeF_4	> 100
SiF_4	- 86
TaF_5	229,5
TeF_4	> 97
TiF_4	284 (sublima)

7.3.4. Misturas de ácidos minerais

Na prática, a maioria dos métodos de dissolução de amostras inorgânicas baseia-se no uso de uma mistura de dois ou três ácidos. A dissolução da amostra pode ser feita, inicialmente, com uma mistura de dois ácidos, seguida pela adição de um terceiro ácido; pode também envolver um ácido em uma etapa até a secura e a posterior retomada com outro ácido. As misturas de ácidos são usadas porque:

(i) diferentes propriedades químicas e físicas podem ser combinadas (*e.g.* um ácido oxidante com um ácido com ação complexante). Muitos metais e ligas metálicas podem ser solubilizados com combinações de HF com HNO_3,

$HClO_4$ ou H_2SO_4 ou HNO_3 + HCl. Por exemplo, misturas de HF com HNO_3 são usadas para dissolver silício, titânio, nióbio, tântalo, zircônio, háfnio, tungstênio e suas ligas, vários carbetos e nitretos, minérios de tungstênio, minérios de urânio, sulfetos e muitos silicatos;

(ii) dois ácidos podem reagir formando produtos com maior reatividade do que qualquer um deles isoladamente. A mistura de 1 parte de HNO_3 concentrado com 3 partes de HCl concentrado, em volume, é conhecida como água régia. O ácido nítrico oxida o ácido clorídrico, dando origem a vários produtos, como cloro molecular e cloreto de nitrosila (NOCl). Esses produtos têm alto poder oxidante e são intensamente reativos. Essa propriedade, associada à ação complexante do íon cloreto, proporciona alta eficiência de dissolução de metais nobres. A água régia é usada para atacar muitos metais e ligas metálicas, incluindo aços, ligas de alta temperatura e ligas de molibdênio. A água régia é mais eficiente se a mistura for mantida em repouso por 10 a 20 min antes de seu uso, para a formação dos compostos oxidantes, principalmente se for utilizada em sistema fechado. Os ácidos nítrico e clorídrico também são usados em outras proporções. A água régia de Lefort, ou água régia invertida, é uma mistura 3:1 (v/v) dos ácidos nítrico e clorídrico;

(iii) uma propriedade indesejável de um ácido pode ser moderada pela presença de um segundo ácido. Por exemplo, o ácido nítrico modera a ação oxidante do ácido perclórico, reagindo com materiais facilmente oxidáveis, que poderiam reagir violentamente com o ácido perclórico;

(iv) a amostra pode ser dissolvida com um ácido, o qual é removido por um outro ácido que o substitui. Por exemplo, a amostra é dissolvida em HF ou em uma mistura contendo HF, e a solução é levada à secura uma ou mais vezes com ácido perclórico ou sulfúrico.

7.3.5. Misturas de ácidos com outros reagentes

Alguns reagentes são utilizados para melhorar a eficiência da dissolução com um ou mais ácidos minerais:

(i) Agentes oxidantes

O poder oxidante de um ácido pode ser aumentado pela utilização de um

agente oxidante auxiliar, assim como um ácido não oxidante também pode ser usado com um agente oxidante. Exemplos incluem H_2O_2 com HNO_3 para a dissolução de aços, Br_2 com HNO_3 para minérios contendo telúrio e $KClO_3$ com HCl para a dissolução de minérios contendo arsênio e /ou enxofre.

A utilização de pequenas quantidades de H_2O_2 é comum no tratamento final para a remoção de produtos coloridos em alguns procedimentos para a oxidação de materiais orgânicos com misturas ácidas (ácidos nítrico e sulfúrico, por exemplo). Peróxido de hidrogênio é também usado em combinação com ácidos sulfúrico e nítrico isoladamente. O H_2O_2 é um agente oxidante poderoso, disponível com alto grau de pureza e a água e oxigênio são seus produtos de decomposição. O potencial padrão de redução do H_2O_2 em meio ácido é de 1,776 V, conforme a seguinte semi-reação:

$$H_2O_{2\,(aq)} + 2H^+_{(aq)} + 2e^- \rightleftharpoons 2\,H_2O_{(l)}$$

(ii) Eletrólitos inertes

São adicionados para aumentar o ponto de ebulição do ácido, resultando em maior temperatura final para a dissolução (*e.g.* adição de Na_2SO_4, K_2SO_4 ou $(NH_4)_2SO_4$ aumenta o ponto de ebulição do H_2SO_4).

(iii) Agentes complexantes

São usados em muitos procedimentos para manter os analitos em solução, na forma de complexos, evitando que os íons metálicos correspondentes sejam precipitados (*e.g.* como óxidos ou hidróxidos). Por exemplo, os ácidos tartárico, cítrico e láctico podem ser combinados com o ácido nítrico para dissolver antimônio elementar, ligas e minérios de antimônio, evitando a hidrólise do íon metálico; ligas de Pb-Sn são dissolvidas com ácidos nítrico e tartárico ou nítrico+tartárico+cítrico e os semicondutores PbTe e GeTe com ácido nítrico concentrado e oxalato de sódio.

(iv) Catalisadores

A velocidade de dissolução de alguns sólidos com ácidos pode ser aumentada significativamente com catalisadores adequados (*e.g.* Cu^{2+} e Hg^{2+}).

A Tabela 7.3 contém alguns reagentes para a dissolução ácida de minérios.

Tabela 7.3. Reagentes usados para decomposição ácida de alguns minérios.

Minério	Analito	Reagente
Silicatos	Elementos-traço	$HF + H_2SO_4$
Minério de cromo	Elementos-traço	$H_2SO_4 + HCl + NaCl$*
Magnetita (Fe_3O_4)	Ge	$H_3PO_4 + KMnO_4$
Esfalerita (ZnS)	Tl, Co, Ni	$HCl + HNO_3$
Tetraedrita ($Cu_9Fe_3Sb_4S_{13}$)	Fe	$H_2SO_4 + (NH_4)_2SO_4$
Pirita (FeS_2)	Traços em geral	$HCl + HNO_3$
Monazita (Ce,La,Nd,Th)PO_4	Lantanídeos	$H_2SO_4 + H_2O_2$
Minérios de magnésio	Elementos-traço	HCl (o resíduo deve ser tratado separadamente)
Fluorita (CaF_2)	Elementos-traço	H_2SO_4 + HCl (possível digestão do resíduo)
Minérios de mercúrio	Elementos-traço	$HCl + HNO_3 + H_2SO_4$**
Bauxita	Elementos-traço	$H_2SO_4 + HCl + HNO_3$
Sulfetos	Cu	H_3PO_4 + HCl

* O NaCl atua para formar e remover o $CrOCl_2$ volátil; ** O $HgCl_2$ evapora.

7.4. DECOMPOSIÇÃO POR FUSÃO

7.4.1. Princípios

O método de fusão pode ser utilizado no preparo de amostras tanto para as técnicas espectrométricas que utilizam a amostra na forma sólida (*e.g.* fluorescência de raios X), quanto para aquelas que utilizam a amostra na forma de uma solução representativa, como é o caso de ICP OES e FAAS.

Esse método é empregado para materiais que não são dissolvidos em ácidos minerais concentrados à quente, são atacados lentamente e/ou dissolvidos parcialmente. A fusão é adequada, ainda, àqueles materiais que formam soluções ácidas instáveis, apresentando componentes com tendência a precipitar, como a sílica. Os seguintes materiais são reconhecidamente de difícil dissolução em ácidos: cimentos, aluminatos, silicatos, minérios de Ti e Zr, minerais mistos de Al, Be e Si, resíduos insolúveis de minérios de ferro, óxidos de Cr, Fe e Si e óxidos mistos de Al, Si e W. O ácido comumente utilizado na digestão desses materiais é o HF, que forma compostos voláteis com Si (SiF_4) e B (BF_3), tornando-se uma limitação do método quando se pretende determinar tais elementos e o processo é conduzido em frasco aberto.

Os métodos de decomposição por fusão baseiam-se no seguinte procedimento geral:

1) A amostra finamente moída (preferencialmente abaixo de 200 mesh – 75 μm), é misturada a um eletrólito ácido ou básico, denominado fundente. Eventualmente, um agente oxidante pode ser adicionado. A escolha do fundente dependerá do tipo de amostra a ser dissolvida e da sua basicidade, sendo que um fundente ácido é adequado para digestão de amostras contendo altos teores de óxidos básicos e carbonatos, enquanto amostras ácidas requerem o uso de fundentes básicos. A proporção entre as massas de amostra e fundente é importante, podendo variar de 1:2 a 1:50 (m/m);
2) A mistura é tratada em um cadinho de níquel ou de platina;
3) O cadinho é aquecido por tempo adequado para que a amostra fique totalmente dissolvida na solução fundida, resultando em um líquido claro (toma-se o cuidado de se fundir toda a amostra com movimentos circulares do cadinho);
4) O líquido fundido se solidifica quando resfriado à temperatura ambiente e o material sólido resultante se desprende das paredes do cadinho quando quebrado em movimentos leves. Um agente não umectante (*e.g.* NaBr, LiBr, KI ou CsI) pode ser utilizado para facilitar a remoção do sólido das paredes do cadinho, sendo que sua massa, em geral, deve ser limitada a 100 mg. A adição de um agente não umectante também reduz a quantidade de material das paredes do cadinho, diminuindo a possibilidade de contaminação cruzada e a necessidade de limpeza frequente. Porém, devem-se considerar os riscos de interferências dependendo da técnica de detecção a ser empregada;
5) Se a fusão for bem sucedida, o material será facilmente solúvel em água ou ácido diluído.

A eficiência da fusão depende da área superficial dos materiais a serem dissolvidos. Entre os fatores limitantes destacam-se a alta viscosidade dos fundidos comparados às soluções, a baixa razão de difusão dos íons liberados e a formação de produtos insolúveis. O processo é afetado, também, pelas características químicas do solvente e propriedades das substâncias a serem decompostas como, por exemplo, energia de ligação dos átomos e íons na estrutura. Os produtos da fusão nem sempre são prontamente dissolvidos e, frequentemente, várias fases novas são obtidas durante a fusão, as quais são mais facilmente solúveis em ácidos que as fases

originais. A formação de compostos com solubilidades variadas pode ser vantajosa na separação de grupos de substâncias.

As reações que ocorrem nas fusões podem ser divididas em reações ácido-base e redox. As reações ácido-base podem ocorrer em fusões alcalinas (*e.g.* carbonatos, boratos e hidróxidos) e fusões ácidas (*e.g.* dissulfatos, fluoretos e óxido de boro). Por sua vez, as reações redox ocorrem em fusões oxidantes (fundentes alcalinos + oxidantes, *e.g.* peróxidos) e fusões redutoras (fundentes alcalinos + redutores, *e.g.* enxofre elementar).[4]

As razões que explicam o sucesso dos métodos de dissolução por fusão são:[2]

i) os eletrólitos inorgânicos fundidos são solventes poderosos;
ii) como as temperaturas de fusão são mais elevadas que nas dissoluções com ácidos, chegando a 1200 ºC dependendo do fundente utilizado, as reatividades e as solubilidades dos materiais também são maiores;
iii) o eletrólito fundido age como um ácido ou uma base de Lewis*, ou ainda como um agente oxidante ou redutor.

7.4.2. Características de alguns fundentes

(a) Carbonato de sódio (p.f. 851 ºC): é um fundente básico geralmente utilizado para a abertura de silicatos e outros compostos refratários. No estado fundido, o carbonato é uma excelente fonte de íons O^{2-}, que se comportam como base de Lewis e reagem com a sílica (ácido de Lewis):

$$CO_3^{2-} \rightarrow CO_2 + O^{2-}$$
$$SiO_2 + O^{2-} \rightarrow SiO_3^{2-}$$

O íon SiO_3^{2-} é formado pelo preenchimento dos orbitais vazios do Si atômico com elétrons do íon O^{2-}. O sal sódico do SiO_3^{2-} é solúvel em água e, assim, a sílica é solubilizada. A utilidade do carbonato de sódio pode aumentar quando combinado com oxidantes, como KNO_3, $KClO_3$, ou Na_2O_2, para amostras que requerem um ambiente oxidante (*e.g.* materiais contendo As, Cr, S ou Sb). O

*Um ácido de Lewis é qualquer espécie (atômica, iônica ou molecular) capaz de aceitar elétrons de outra espécie, e uma base de Lewis é qualquer espécie capaz de doar elétrons.

K_2CO_3 (ponto de fusão de 891 ºC) e o $NaKCO_3$ (mistura 1:1 (m/m) de Na_2CO_3 e K_2CO_3, ponto de fusão de 712 ºC) também são usados em algumas aplicações.

(b) Hidróxido de sódio (p.f. 318 ºC) ou hidróxido de potássio (p.f. 360 ºC): são fundentes básicos poderosos para silicatos, aluminossilicatos, carbeto de silício e outros compostos.

(c) Peróxido de sódio (Na_2O_2, p.f. 460 ºC): decompõe-se quando aquecido e age como um poderoso fundente básico oxidante para sulfetos e ligas metálicas insolúveis em ácidos.

(d) Monohidrogenossulfato de potássio ($KHSO_4$, p.f. 197 ºC) e pirossulfato de potássio ($K_2S_2O_7$, p.f. 325 ºC): esses dois compostos são, na realidade, um mesmo fundente. Sob aquecimento ocorrem as seguintes reações:

$$2\ KHSO_{4(s)} \rightarrow K_2S_2O_{7(l)} + H_2O_{(g)}$$
$$K_2S_2O_{7(l)} \rightarrow K_2SO_{4(l)} + SO_{3(g)}$$

O SO_3 age como um ácido de Lewis. Esses fundentes são usados a 500 ºC e são úteis para a decomposição de óxidos metálicos como Al_2O_3, BeO, Cr_2O_3, Fe_2O_3, MoO_3, Nb_2O_5, Ta_2O_5, TeO_2, TiO_2 e ZrO_2. Todos esses óxidos são convertidos em sulfatos solúveis.

(e) Ácido bórico (p.f. 450 ºC): é um fundente ácido útil para silicatos, podendo ser usado como alternativa aos fundentes básicos, quando se pretende determinar metais alcalinos. Uma vantagem adicional desse fundente é que qualquer excesso de B_2O_3 pode ser separado da matriz, como o éster inorgânico volátil trimetilborato, destilando-se o resíduo com metanol:

$$B_2O_3 + 6\ CH_3OH \rightarrow 2\ B(CH_3O)_3 + 3\ H_2O$$

(f) $CaCO_3$ (decompõe a 825 ºC) + NH_4Cl (decompõe a 338 ºC): quando aquecida, essa mistura produz CaO e $CaCl_2$. Esse fundente é recomendado para a extração de metais alcalinos em silicatos.

(g) Fluoreto de potássio (p.f. 860 °C) e KHF_2 (p.f. 239 °C): são fundentes a baixas temperaturas, característica particularmente útil para a determinação de alguns elementos que formam fluoretos voláteis. São usados para a decomposição de silicatos e óxidos de elementos formadores de fluoro-complexos estáveis, como Be, Nb, Ta e Zr. O produto da fusão pode ser levado a fumos com H_2SO_4 para a remoção de fluoretos. Deve-se recordar que, nesse caso, o Si e o B são perdidos nas formas de SiF_4 e BF_3, respectivamente.

(h) Tetraborato de sódio ($Na_2B_4O_7.10H_2O$, p.f. 741 °C): usado em fusões para a decomposição de Al_2O_3, ZrO_2, minérios de Zr, minerais contendo terras raras, Ti, Nb ou Ta, assim como materiais contendo Al e minérios de Fe. O tetraborato de sódio pode ser utilizado diretamente ou em combinação com Na_2CO_3. As temperaturas de fusão variam de 1000 a 1200 °C.

(i) Metaborato de lítio ($LiBO_2$) e tetraborato de lítio ($Li_2B_4O_7$): são empregados individualmente ou em misturas eutéticas disponíveis em alto grau de pureza. São muito utilizados em espectrometria de fluorescência de raios X, com preferência para os eutéticos com menores pontos de fusão, para minimizar perdas de analitos por volatilização. Para fins de comparação, são apresentados os pontos de fusão das substâncias puras e de duas das várias misturas eutéticas encontradas no mercado: $Li_2B_4O_7$ (p.f. 920 °C), $LiBO_2$ (p.f. 845 °C), 50% (m/m) $Li_2B_4O_7$ + 50% m/m $LiBO_2$ (p.f. 870 °C) e 35,3% (m/m) $Li_2B_4O_7$ + 64,7% (m/m) $LiBO_2$ (p.f. 825 °C). O $Li_2B_4O_7$ é pouco higroscópico e pode ser usado diretamente ou em combinação com $LiBO_2$. O $Li_2B_4O_7$ é um ácido fraco adequado para a fusão de amostras com características básicas. O fundido é altamente viscoso, sendo que os vidros formados são dificilmente dissolvidos em ácidos minerais. Tal como outros boratos fundidos, esse vidro também adere fortemente à platina do cadinho, sendo aconselhável o uso de cadinho de Pt-Au.[4]

7.4.3. Aplicações

Muitas aplicações envolvendo fusão na dissolução de materiais inorgânicos podem ser encontradas na literatura. Em se tratando de técnicas espectrométricas, o carbonato de sódio é o agente fundente mais comum, por ser encontrado

comercialmente em pureza adequada para a determinação, mesmo de constituintes em baixas concentrações. Os recipientes utilizados para fusão com carbonatos são, usualmente, de Pt ou suas ligas, sendo que o tempo de vida útil do cadinho dependerá da textura do metal, da temperatura de fusão e da composição do material decomposto. Como os carbonatos são usados principalmente na decomposição de silicatos, tais como rochas e vidros, quando se utiliza uma chama como fonte de calor, pode ocorrer perda acentuada de ferro da amostra para o cadinho de platina. No entanto, esse efeito pode ser minimizado realizando-se a fusão em forno tipo mufla.[5]

Os carbonatos alcalinos são eficientes fundentes na determinação de impurezas em carbeto de silício, apesar de alguns elementos serem volatilizados durante o processo de fusão, tais como As e Se (parcialmente) e Tl e Hg (completamente). No entanto, a determinação de Re em amostras geológicas por ICP-MS foi possível a partir da fusão com Na_2CO_3 em cadinho de platina. Os resultados foram concordantes com aqueles obtidos a partir da digestão ácida das amostras.[6]

A combinação de Na_2CO_3 com agentes oxidantes, como KNO_3, $KClO_3$ ou Na_2O_2,[2] pode melhorar a eficiência da fusão para materiais de elevada resistência química; misturas com outros agentes fundentes, como o K_2CO_3, são utilizadas na decomposição de pós de cerâmicas avançadas, contendo Si_3N_4 e BN. Nesse caso, uma mistura 1:1 (m/m) de Na_2CO_3 e K_2CO_3 é adicionada às amostras e a fusão efetuada em cadinho de platina.[7]

O $Na_2B_4O_7$ misturado com o Na_2CO_3 pode ser utilizado para a decomposição de solos.[8] Outro material decomposto por essa mistura é o nitreto de titânio na proporção amostra:fundente de 1:20 (m/m) em cadinho de platina. A mistura é eficiente, apesar de TiN ser um material com elevada dureza, resistência à abrasão, alto ponto de fusão e alta estabilidade química mesmo sob elevadas temperaturas. Da mesma forma, o nitreto de alumínio pode ser decomposto utilizando essa mistura, o que é vantajoso devido à baixa solubilidade em meio ácido, mesmo sob aquecimento. A mesma proporção amostra:fundente utilizada para TiN foi requerida no caso do AlN. A solução resultante, após dissolução do sólido em água, foi utilizada para a determinação de impurezas por ICP OES.[9,10]

Ácido bórico, quando misturado ao Na_2CO_3, 2:3 (m/m), é capaz de decompor óxido de zircônio, quando submetido a 1000 ºC durante 15 min em cadinho de Pt-Au.[11] O metaborato de lítio ($LiBO_2$) possibilita a solubilização de

muitos compostos. Apesar de ser susceptível à cristalização, é o fundente preferido para o preparo de soluções devido à baixa viscosidade da mistura fundida.[4] Diversas aplicações utilizando $LiBO_2$ podem ser encontradas na literatura, como a decomposição de silicatos em cadinho de grafite na proporção amostra/fundente 1:1 (m/m). Nesse caso, a fusão foi feita a 1000 ºC durante 30 min e o fundido foi solubilizado em 8 % (v/v) HNO_3. O procedimento total foi finalizado em 3 a 4 h.[12]

Amostras de materiais cerâmicos também podem ser decompostas utilizando fusão com $LiBO_2$ em cadinho de platina a 900 – 1000 ºC, conforme procedimento desenvolvido por Papadopoulou et al., 2004.[13] Nesse trabalho, os autores compararam resultados obtidos por fusão e decomposição assistida por radiação micro-ondas utilizando material de referência de cerâmica antiga. Outra aplicação interessante do $LiBO_2$ como fundente na decomposição de materiais é a determinação de Mn em sabão em pó por ICP OES e ICP-MS. Amostras de sabão em pó não são digeridas facilmente em processos por via úmida. Entretanto, as amostras fundidas foram dissolvidas em HNO_3 e limites de detecção da ordem de sub $\mu g\ g^{-1}$ foram obtidos para ambas as técnicas. Os componentes orgânicos podem ser destruídos por via seca, mas os constituintes inorgânicos, tais como silicato de sódio, são altamente resistentes e insolúveis em ácidos concentrados. Assim, a fusão alcalina se apresenta como uma excelente opção para decomposição dessas amostras, principalmente devido ao tempo relativamente curto necessário para a execução desse processo. Deve-se salientar que o procedimento anteriormente utilizado se baseava na extração do analito em HNO_3 diluído à quente, resultando em várias horas para o preparo de uma amostra.[14]

O $Li_2B_4O_7$ pode ser utilizado na decomposição de amostras arqueológicas e argilas.[15] Amostras de rochas graníticas foram decompostas por fusão com mistura de $LiBO_2$ + $Li_2B_4O_7$, 1 + 4 (m/m), em cadinho de grafite, na proporção amostra/fundente de 1:3 (m/m). A fusão foi realizada em forno mufla sob temperatura de 1000 ºC durante 20 min e o produto da fusão foi dissolvido em HCl diluído.[16] A mesma mistura foi utilizada na digestão de minério de nióbio-tântalo para a determinação de diversos elementos por ICP OES.[17]

Metaborato de lítio também pode ser utilizado como fundente na decomposição de material de fricção, que é altamente complexo devido à quantidade e diversidade dos constituintes presentes, que apresentam texturas diferentes e podem

não ser completamente miscíveis. Para que esse processo seja eficiente, é necessário cominuir uma quantidade adequada do material, para a obtenção de uma amostra teste representativa da amostra original. Após esse pré-tratamento, a amostra deve ser calcinada sob temperatura de 500 ºC para a remoção da fração orgânica. Após essa etapa, executa-se a fusão de 100 mg de amostra com $Li_2B_4O_7$, na proporção amostra/fundente de 1:10 (m/m), em cadinho de platina a 1000 ºC durante 1 h. A dissolução do sólido pode ser feita em 1:1 (v/v) HNO_3. Os analitos mais comumente determinados neste tipo de amostra são Al, Ba, Ca, Cu, Fe, Mg, S, Si, Pb e Zn. Em estudos anteriores, observou-se que o tetraborato de lítio é mais eficiente na fusão de aluminossilicatos do que o metaborato de lítio. No entanto, a mistura de 4 + 1 (m/m) de $LiBO_2$ e $Li_2B_4O_7$, que corresponde a um eutético com ponto de fusão de 832 ºC, é considerada como o fundente universal para amostras contendo elevadas concentrações de óxidos de silício e alumínio.

Outros fundentes menos comuns também podem ser úteis na decomposição de materiais inorgânicos, como a mistura de metaborato de potássio (KBO_2) e carbonato de potássio (K_2CO_3), utilizada para a decomposição de silicatos. A mistura binária de 3:2 (m/m) pode fundir amostras de rochas basálticas, areia ou vidros pulverizados em cadinho de platina com aquecimento em forno mufla. A vantagem desse procedimento é o curto tempo de fusão (10 min) e a rápida dissolução do fundido em meio ácido (HCl, HNO_3 ou H_2SO_4 diluídos).[18]

Kohl et al.[19] utilizaram $(NH_4)_2SO_4$ na digestão de pós cerâmicos à base de ZrO_2. Na proporção amostra/fundente de 1:10 (m/m), a amostra foi fundida em recipientes de quartzo sob temperaturas de até 450 ºC em forno mufla, sendo o produto resultante dissolvido em 2% (v/v) HNO_3. A vantagem desse fundente reside na baixa temperatura de fusão requerida (< 500 ºC) possibilitando o uso de recipiente de quartzo e minimizando a perda de elementos potencialmente voláteis.

Para a determinação de impurezas presentes em baixas concentrações em ZrO_2, outros fundentes podem ser utilizados como, por exemplo, $K_2S_2O_7$, $LiBO_2$/H_3BO_3, $Li_2B_4O_7$/Li_2CO_3 ou $Na_2B_4O_7$. Esses métodos de fusão demandam menos tempo que os processos de digestão ácida, porém necessitam de elevadas temperaturas, podendo ocasionar contaminações e/ou perda de analitos.[20]

Das possíveis fontes de contaminação durante um processo de fusão, o fundente e o cadinho podem ser considerados os agentes mais críticos. Com a utilização de reagentes de pureza apropriada, os riscos de contaminação devidos

ao fundente podem ser minimizados. Por outro lado, o cadinho pode causar contaminações como, por exemplo, na fusão com Na_2O_2 em cadinho de Ni, na qual pode ser observada contaminação por Cu, Mn, Ni e Zn. Utilizando-se cadinho de Zr com o mesmo fundente pode ser observada a contaminação do próprio Zr.[21] Sendo assim, a escolha do cadinho adequado é importante no planejamento da decomposição de um material por fusão. Em geral, os cadinhos de Pt e Pt-Au são indicados para a maioria dos fundentes, com exceção de NaOH, KOH e Na_2O_2, que requerem o uso de cadinhos de Fe, Ni ou Zr dependendo do analito de interesse. Já os cadinhos de grafite, especialmente os de alta pureza, são uma boa opção quando se trata de fusão com H_3BO_3, $Na_2B_4O_7$, $LiBO_2$ e $Li_2B_4O_7$. O sólido resultante é facilmente removido do cadinho ainda incandescente, facilitando a recuperação quantitativa da amostra fundida. No entanto, sua utilização apresenta algumas desvantagens como, por exemplo, o diminuto tempo de vida útil devido às elevadas temperaturas atingidas durante o processo e a inadequação de uso para amostras com elevados teores de ferro, que pode reagir com o grafite, provocando seu desgaste precoce.

7.4.4. Aplicação da fusão na espectrometria de fluorescência de raios X

O preparo de discos vítreos através da fusão visando à determinação elementar por fluorescência de raios X foi originalmente desenvolvido por Claisse em 1957.[22] Desde então, esse método de preparo vem sendo amplamente utilizado, sobretudo para a análise de amostras geológicas, pois possibilita a correção de efeitos mineralógicos que se manifestam devido à ocorrência natural dos analitos em diferentes tipos de minerais.[23] Para esse objetivo, a amostra sólida é finamente cominuída (idealmente com partículas inferiores a 75 μm) sendo misturada a um fundente apropriado em uma razão em massa de fundente/amostra entre 5:1 a 10:1.[24] Os fundentes mais comumente empregados são o $LiBO_2$ e o $Li_2B_4O_7$, que podem ser usados separadamente ou misturados em diferentes proporções. A mistura é transferida para um cadinho de 95% Pt / 5% Au e colocada em um forno com aquecimento elétrico para a fusão em temperaturas da ordem de 1000 a 1250 ºC. Aguarda-se até que o fundente se liquefaça para que se inicie a agitação com o intuito de promover a homogeneização do material e a remoção de bolhas de ar. Após a fusão, o material liquefeito pode ser vertido para um molde apropriado,

onde ocorrerá a vitrificação durante o resfriamento.[25] Para uma eficiente remoção do disco vítreo, faz-se necessária a adição prévia de um agente desmoldante, que aumenta a tensão superficial, reduzindo a área de contato entre a amostra e o recipiente. Os agentes desmoldantes mais comumente utilizados são iodetos e brometos, tais como LiI, NaI, KI, NH_4I, LiBr, NaBr e KBr.[25]

O método de fusão é ainda muito empregado em laboratórios de rotina, pois com o uso de fornos elétricos automáticos, disponíveis comercialmente, pode-se obter até 30 discos vítreos por hora. Além disso, a amostra teste obtida por esse método apresenta elevada homogeneidade. Todavia, algumas limitações devem ser consideradas, como a potencial perda de elementos voláteis, devido à elevada temperatura e a diluição da amostra, que afeta a detectabilidade. Por exemplo, para evitar a perda de S por volatilização, pode-se adicionar BaO ao fundente com a finalidade de aprisionamento do elemento na forma de $BaSO_4$ durante a fusão.[26]

Uma vantagem importante do método de fusão na fluorescência de raios X diz respeito à possibilidade de condução de análises através de uma estratégia de calibração que independe da matriz,[27] além da facilidade de construção de curvas de calibração pela simples adição de quantidades crescentes de óxidos dos elementos de interesse ao fundente. Além disso, para melhorar a precisão e exatidão das medidas, um padrão interno pode ser adicionado ao fundente, o que contribui para minimizar os erros de amostragem decorrentes de imperfeições físicas da amostra teste geradas durante a vitrificação.[28]

Há iniciativas recentes destinadas ao aperfeiçoamento do método de fusão para posterior análise direta do sólido obtido por fluorescência de raios X, como o trabalho de Ichikawa et al.,[29] no qual foi otimizado o preparo de amostras de rochas ígneas. Nesse estudo, foi dada ênfase à condução da fusão, minimizando a quantidade de amostra requerida, através do preparo de discos com 12,5 mm de diâmetro, em detrimento dos convencionais que possuem 35 mm de diâmetro. Além disso, para minimizar a diluição do material, utilizou-se uma razão em massa de fundente/amostra de 1:1. O método proposto consistiu na mistura de 200 mg da amostra moída com 200 mg de tetraborato de lítio e no uso de uma solução de cloreto de lítio para auxiliar na remoção do disco vítreo formado no cadinho. Foram preparadas curvas de calibração utilizando-se óxidos, carbonatos e difosfatos dos 34 analitos, obtendo-se coeficientes de correlação linear superiores a 0,990.

A exatidão do método foi confirmada pela análise de 5 amostras de referência de rochas apresentando composição química variada.

7.4.5. Recomendações Práticas

Como já demonstrado pelos diversos trabalhos reportados, a fusão é eficiente para a decomposição de materiais inorgânicos complexos, como as aluminas, materiais de fricção e minérios. A solução resultante desse processo pode ser utilizada para a determinação de elementos majoritários e minoritários utilizando ICP OES ou AAS. No entanto, cuidados especiais devem ser tomados no procedimento analítico para a obtenção da solução da amostra. O procedimento recomendado é pesar, inicialmente, metade da massa do fundente, em seguida a porção da amostra e, por último, a outra metade do fundente. Dessa forma, prepara-se um "sanduíche" da amostra com o fundente, e perdas durante o processo de fusão são minimizadas pelo fato da amostra estar protegida pelo fundente por todos os lados no cadinho. Outra possibilidade é a utilização de uma tampa de platina no caso da fusão realizada em cadinho de Pt e Pt-Au. Cabe ressaltar ainda que, em muitos casos, um pré-aquecimento do cadinho deve ser feito antes da introdução no forno mufla. Quando se utiliza um fundente com ponto de fusão baixo (por exemplo, $KHSO_4$, p.f. 214 ºC), a introdução direta no forno mufla pode causar perdas da amostra. Nesse caso, recomenda-se fundir primeiro em bico de Bunsen e depois levar à mufla. A utilização de pinça com ponta de platina para manipulação do cadinho no momento da introdução e retirada do forno mufla, assim como na etapa de dissolução do sólido resultante é outro detalhe importante no processo da fusão. A utilização de uma pinça de ferro pode causar contaminações.

Podem ocorrer, ainda, situações em que o material fundido não se desprenda da superfície do cadinho. Quando isso ocorre, o procedimento mais indicado é adicionar o ácido diluído diretamente dentro do cadinho, ou introduzi-lo em um béquer contendo a solução ácida aquecida. Nesse último caso, atenção deve ser dada à limpeza externa do cadinho. Pequenos jatos de água desionizada devem ser disparados contra a superfície externa do mesmo antes de sua introdução no béquer, evitando contaminações e/ou perdas devido ao choque térmico entre o cadinho sob altas temperaturas e a solução na qual o bolo fundente será dissolvido.

O processo de dissolução do sólido resultante da fusão também é decisivo para o sucesso do preparo da solução da amostra. Dependendo do fundente utilizado, a cristalização indesejada pode ocorrer, como quando se utiliza $LiBO_2$ na fusão de material refratário. O volume de ácido e sua concentração são importantes para a obtenção de uma solução límpida. Sendo assim, o aquecimento deve ser monitorado e, dependendo da amostra, agitação é imprescindível.

Tendo em vista as observações acima, pode-se dizer que métodos de fusão requerem experiência e habilidade do analista para a execução dos procedimentos analíticos. No entanto, em alguns casos, o método de decomposição por fusão se apresenta como a melhor, se não única, alternativa para o preparo da amostra.

REFERÊNCIAS

1. BOCK, R. **A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry**. Glasgow: International Textbook, 1979. 444p.
2. ANDERSON, R. **Sample Pretreatment and Separation**. Chichester: John Wiley, 1991. 632p.
3. HAYNES, W. M. Ed. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**, 96th Edition, Boca Raton: CRC Press, 2015. 2677 p.
4. ŠULCEK, Z.; POVONDRA, P. **Methods of Decomposition in Inorganic Analysis**. Boca Raton: CRC, 1989. 325p.
5. SHELL, H.R. Possible loss of iron during sodium carbonate fusion of silicates and rocks. **Analytical Chemistry**, 26, 591-593, 1954.
6. UCHIDA, S.; TAGAMI, K.; TABEI, K. Comparison of alkaline fusion and acid digestion methods for the determination of rhenium in rock and soil samples by ICP-MS. **Analytica Chimica Acta**, 535, 317-323, 2005.
7. MANN, S.; GEILENBERG, D.; BROEKAERT, J.A.C.; JANSEN, M. Digestion methods for advanced ceramic material and subsequent determination of silicon and boron by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**,12, 975-979, 1997.
8. MEDVED, J.; STRESKO, V.; KUBOVÁ, J. Efficiency of decomposition procedures for the determination of some elements in soils by atomic spectroscopic methods. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 360, 219-224, 1998.
9. WANG, Z.; NI, Z., QIU, D.; TAO, G.; YANG, P. Determination of impurities in titanium nitride by slurry introduction axial viewed inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 60, 361-367, 2005.

10. WANG, Z.; NI, Z.; QIU, D.; TAO G.; YANG, P. Characterization of stability of ceramic suspension for slurry introduction in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and application to aluminium nitride analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 20, 315-319, 2005.

11. WATANABE, M.; HORIKI, A.; UCHIDA, T. Contamination-free decomposition of zirconium oxide for the determination of ultra-trace silicon by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 416, 117-119, 2000.

12. BURMAN, J.O.; PONTER C.; BOSTROM, K. Metaborate digestion procedure for inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Analytical Chemistry**, 50, 679-680, 1978.

13. PAPADOPOULOU, D.N.; ZACHARIADIS, G.A.; ANTHEMIDIS, A.N.; TSIRLIGANIS, N.C.; STRATIS, J.A. Microwave-assisted versus conventional decomposition procedures applied to a ceramic potsherd standard reference material by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 505, 173-181, 2004.

14. JARVIS, K.E.; WILLIAMS, J.G.; GIBSON, B.C.H.; TEMMERMAN, E.; DE CUYPER, C. Rapid and accurate determination of manganese in washing powders using alkali fusion and inductively coupled plasma techniques. **Analyst**, 121, 1929-1933, 1996.

15. PAAMA, L.; PITKÄNEN, I.; PERÄMÄKI, P. Analysis of archaeological samples and local clays using ICP-AES, TG-DTG and FTIR techniques. **Talanta**, 51, 349-357, 2000.

16. NAVARRO, M.S.; ULBRICH, H.H.G.J.; ANDRADE, S.; JANASI, V.A. Adaptation of ICP-OES routine determination techniques for the analysis of rare earth elements by chromatographic separation in geologic materials: tests with reference materials and granitic rocks. **Journal of Alloys Composition**, 344, 40-45, 2002.

17. ANIL, G.; RAMANAJI, M.; REDDY, M.R.P.; KUMAR, A.; PRASKASH, T.L.; SETHI, V.C. ICP-OES determination of Ta, Nb, Fe, Ti, Sn, Mn and W in indian tantalite-niobate ore concentrate using microwave digestion. **Atomic Spectroscopy**, 23, 32-35, 2002.

18. YOSHIKUNI, N. Novel rapid decomposition and dissolution method for silicates using a mixed potassium metaborate/potassium carbonate flux. **Talanta**, 43, 1949-1954, 1996.

19. KOHL, F.; JAKUBOWSKI, N.; BRANDT, R.; PILGER, C. New strategies for trace analysis of ZrO_2, SiC and Al_2O_3 ceramic powders. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 359, 317-325, 1997.

20. NICKEL, H.; BROEKAERT, J.A.C. Some topical applications of plasma atomic spectrochemical methods for the analysis of ceramic powders. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 363, 145-155, 1999.

21. REITZNEROVA, E. **A Handbook of Microwave Fusion Preparation Methods**. Amherst: CEM Corporation, 1995. 43p.

22. CLAISSE, F. Accurate X-ray Fluorescence analysis without internal standards. **Norelco Reporter**, 4, 3-7, 1957.

23. VENDEMIATTO, M. A.; ENZWEILER, J. Robustez e versatilidade na análise de amostras geológicas por fluorescência de raios X. **Geochimica Brasiliensis**, 17, 75-80, 2003.

24. COLER, D. **Sample Preparation for XRF Analysis**. Available at: http://labauto.flsmidth.com/blog/the-5-most-common-ways-to-prepare-samples-for-xrf-analysis. Acesso em 08/06/2016.

25. WATANABE, M. Sample preparation for X-ray fluorescence analysis. IV. Fusion bead method - Part 1 basic principals. **Rigaku Journal**, 31, 12-17, 2015.

26. GAZULLA, M. F.; GÓMEZ, M. P.; ORDUÑA, M.; RODRIGO, M. New methodology for sulfur analysis in geological samples by WD-XRF spectrometry. **X-Ray Spectrometry**, 38, 3-8, 2009.

27. SIEBER, J. R. Matrix-independent XRF methods for certification of standard reference materials. **Advances in X-ray Analysis**, 45, 493-504, 2002.

28. REEVES, S. J.; BROWN, D.; METZ, J. Development and application of a thulium based internal standard method for high accuracy nickel analysis. **International Centre for Diffraction Data**, ISSN 1097-0002: 15-28, 2007.

29. ICHIKAWA, S.; ONUMA, H.; NAKAMURA, T. Development of undersized (12.5 mm diameter) low-dilution glass beads for X-ray fluorescence determination of 34 components in 200 mg of igneous rock for applications with geochemical and archeological silicic samples. **X-Ray Spectrometry**, 45, 34-47, 2016.

Capítulo 8

PIROIDRÓLISE

Éder Lisandro de Moraes Flores
Érico Marlon de Moraes Flores
Fabiane Goldschmidt Antes
Fábio Andrei Duarte
Juliano Smanioto Barin
Valderi Luiz Dressler

8.1. INTRODUÇÃO

O método de piroidrólise consiste na hidrólise dos elementos do grupo dos halogênios, além de boro e enxofre, em temperaturas próximas a 1000 °C e na presença de vapor d'água. Após a reação de piroidrólise, os produtos voláteis são condensados e absorvidos em uma solução adequada, na qual os analitos podem ser quantificados.[1] O conceito de piroidrólise foi proposto por Fremy em 1856, em pesquisas sobre a reação da H_2O com CaF_2 em temperaturas elevadas e a subsequente conversão em CaO.[2] Porém, a primeira aplicação da piroidrólise como um método de preparo de amostras ocorreu somente em 1890, para a determinação de boro em nitreto de boro.[3] Em 1926, foram feitas as primeiras investigações para a subsequente determinação de flúor em fluoreto de zircônio.[4] Desde então, outros estudos e novas aplicações foram feitas para implementar métodos de preparo de amostras que levassem à obtenção de resultados com boa precisão e boa exatidão.

8.2. HISTÓRICO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O uso da piroidrólise como método de preparo de amostras foi retomado durante o Projeto Manhattan (1942-1945), durante a Segunda Guerra Mundial, para a determinação de flúor em fluoreto de urânio que foi sintetizado a partir de seus óxidos.[5] Após, o campo de aplicações da piroidrólise teve maior expansão e importância, pois houve a necessidade do desenvolvimento de métodos rápidos de preparo de amostras, que permitissem a subsequente determinação de halogênios em diversos materiais, principalmente em fluoretos de urânio e tório.[6] Nesse período, foram determinadas as constantes de equilíbrio de decomposição de vários fluoretos de metais alcalinos e metais alcalino-terrosos em diferentes temperaturas. Para tanto, um suporte de platina foi utilizado para acondicionar a amostra, a qual era introduzida em um tubo reator aquecido, também de platina. Vapor d'água era introduzido no sistema e, em seguida, a solução condensada era analisada para determinar as respectivas constantes de equilíbrio.[7] Esse estudo foi, posteriormente, ampliado por Domange e Wohlhuter[8] para determinar a constante de equilíbrio da reação do UF_4, em temperaturas entre 200 e 500 °C. Nesse trabalho, propuseram

que a reação de piroidrólise procedia de acordo com a equação 1 e que, com o aumento da temperatura, a reação de hidrólise era favorecida.

$$UF_4 + 2H_2O \rightarrow UO_2 + 4HF \quad (1)$$

A partir destas investigações, Domange[7] e Domange e Wohlhuter[8] estabeleceram que a hidrólise de haletos inorgânicos em altas temperaturas ocorre de acordo com a equação 2, onde M é um elemento metálico e X um halogênio.

$$MX_{2n} + nH_2O \rightarrow MO_n + 2nHX \quad (2)$$

Posteriormente, Warf[5] revisou os princípios destas reações, determinando outros parâmetros termodinâmicos e mostrando claramente as potencialidades analíticas da piroidrólise. Desde então, a piroidrólise tem sido frequentemente aplicada para o preparo de amostras sólidas, predominantemente as de natureza inorgânica. Um esquema genérico que representa o funcionamento do sistema de piroidrólise está mostrado na Figura 8.1, bem como a descrição de seus principais componentes.

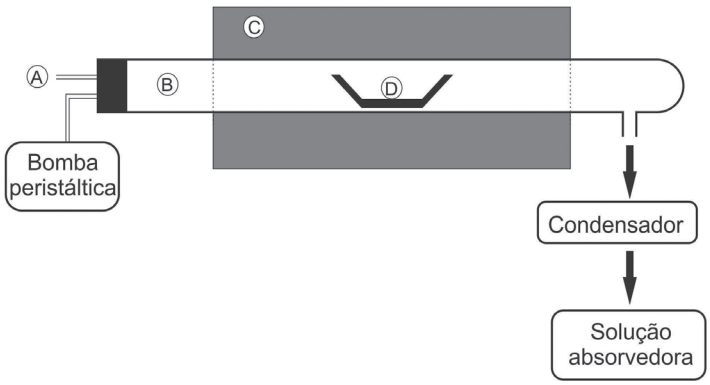

Figura 8.1. Representação genérica de um sistema de piroidrólise: A) entrada do gás de arraste (ar, oxigênio ou gás inerte), B) reator, C) sistema de aquecimento (chama ou forno eletrotérmico) e D) suporte contendo amostra.[9]

No sistema mostrado na Figura 8.1 a amostra previamente cominuída é colocada no suporte (na forma de navícula) e introduzida no reator. O gás, normalmente ar, O_2 ou um gás inerte, com vazão entre 0,5 e 1,0 L min^{-1}, arrasta o vapor d´água gerado ao longo do reator aquecido, passando pelo suporte contendo a amostra. A água pode ser introduzida no reator com o auxílio de uma bomba peris-

táltica, cuja vazão é mantida entre 0,1 e 0,5 mL min^{-1}. Outra alternativa é utilizar um sistema de aquecimento para a água, de modo que o vapor d'água gerado seja levado até o reator pelo gás de arraste. Quando o gás saturado com vapor d'água entra em contato com a amostra aquecida, a aproximadamente 1000 °C, ocorre a reação de hidrólise com os constituintes da amostra, liberando os elementos que formam compostos voláteis nessa reação. Finalmente, o vapor contendo os analitos passa por um sistema de condensação e é recolhido em um recipiente adequado. Dependendo do elemento, o vapor d'água pode ser somente condensado ou condensado e absorvido em uma solução, geralmente alcalina.

Durante a reação de piroidrólise, elementos do grupo dos halogênios, boro, enxofre e alguns complexos, como SiF_6^{2-}, são convertidos em seus ácidos voláteis correspondentes. Esses elementos, sob as condições descritas anteriormente, são quantitativamente volatilizados e determinados na solução coletada. Óxidos e hidróxidos de metais também são formados na reação, porém são pouco voláteis nas temperaturas empregadas na piroidrólise, permanecendo no suporte da amostra.[1] Essa importante característica da piroidrólise propicia a separação dos analitos da matriz que, em muitos casos, pode minimizar problemas de interferência na etapa de determinação.

Warf[5] e Warf *et al.*[6] propuseram o mecanismo de liberação do flúor na reação de piroidrólise a partir de diversos compostos fluorados. Para este estudo, utilizaram um sistema de piroidrólise com reator e suporte para a amostra de platina. Assim, foi proposto que estes compostos podem ser classificados em dois grupos:

(i) O primeiro grupo inclui fluoretos naturais e sintéticos de elementos que formam hidróxidos pouco solúveis como Al, Bi, Sc, Y, U, V, Zn, Zr e outros fluoretos de elementos do grupo dos terras raras;

(ii) O segundo grupo inclui os fluoretos dos metais alcalinos e alcalino-terrosos.

Os compostos formados com os elementos do primeiro grupo são facilmente volatilizados pela reação de piroidrólise e liberam quantidades equivalentes de HF, as quais podem ser quantificadas na solução condensada. No caso dos compostos do segundo grupo, os óxidos formados na decomposição reagem com o fluoreto de hidrogênio liberado, sendo uma etapa de reação lenta e, em alguns casos, não quantitativa. Neste caso, é necessária a adição de um composto para facilitar a liberação do flúor. Estes compostos são denominados aceleradores ou catalisadores.[1,6] O U_3O_8 é um exemplo de acelerador utilizado na reação de hidrólise e a reação procede de acordo com a equação 3.

$$6NaF + 2U_3O_8 + 3H_2O + O_2 \rightarrow 6HF + 3Na_2U_2O_7 \quad (3)$$

Para materiais como fluorita e fluorapatita, o uso de um acelerador é necessário para promover a liberação quantitativa de flúor. No entanto, diferentes mecanismos são propostos para estas reações. Segundo Conrad e Brownlee,[10] as reações conduzidas na presença de MoO_3 ou WO_3 resultam na formação de fluoretos ou oxifluoretos de Mo e W, os quais, na presença de vapor d'água, sofrem hidrólise, liberando HF.

Para o boro, foi proposta a reação representada na equação 4, através da formação de ácido bórico.[11]

$$MB_2 + 8H_2O \rightarrow MO_2 + 2H_3BO_3 + 5H_2 \quad (4)$$

No caso do enxofre, possivelmente ocorre a formação de anidrido sulfuroso (SO_2) e anidrido sulfúrico (SO_3). Assim, é necessário o uso de solução absorvedora contendo um oxidante (como o peróxido de hidrogênio) em meio alcalino (pH entre 9 e 10) para absorver os gases de enxofre e oxidá-los a sulfato.[12]

Ponikvar e Liebman[13] estudaram as reações de piroidrólise na presença de diferentes aceleradores. Comprovaram que a reação de liberação do flúor (equação 5) na presença de WO_3 possui entalpia (ΔH) e energia livre de Gibbs (ΔG) positivas nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP, 25 °C e 1 atm) sendo, portanto, termodinamicamente desfavorável.

$$CaF_{2(s)} + WO_{3(s)} + H_2O_{(g)} \rightarrow CaWO_{4(s)} + 2HF_{(g)} \quad (5)$$

Entretanto, em temperaturas mais elevadas (superiores a 700 °C), a reação é termodinamicamente favorável. Nesse mesmo estudo,[13] verificaram que o principal fator que contribui para a espontaneidade da reação é a entropia do sistema, sendo esta bastante favorável no sentido da formação dos produtos.

Além do uso de temperaturas elevadas para amostras consideradas refratárias, a liberação dos elementos pode ser facilitada pela presença de um acelerador que atua, também, como fundente, permitindo que a decomposição e consequente liberação dos elementos ocorram em temperaturas mais baixas. Diversos compostos podem ser empregados como aceleradores na reação de piroidrólise, mas os óxidos

são os mais adequados para a liberação quantitativa de diversos elementos.[11] Óxidos como SiO_2, TiO_2, WO_3, Bi_2O_3, Al_2O_3, MnO_2, MoO_3, Cr_2O_3 e V_2O_5, ou misturas destes, são os mais indicados. Geralmente, estes compostos são empregados na forma sólida e são misturados com a amostra antes do início da reação. O uso de um determinado acelerador dependerá da composição da matriz, bem como da forma como o analito se encontra na mesma.[13] Para garantir a recuperação quantitativa dos analitos é importante uma boa mistura entre a amostra e o acelerador.[14]

Dentre os aceleradores citados, o V_2O_5 tem sido o mais utilizado. Muitas das aplicações da piroidrólise têm usado este acelerador para a subsequente determinação de halogênios em materiais refratários, tais como materiais geológicos, ligas e vidros. Isso se deve principalmente ao ponto de fusão relativamente baixo do V_2O_5 (em torno de 690 °C) e sua ação efetiva na liberação dos analitos.[15] Entretanto, em temperaturas acima de 850 °C, ocorre a volatilização do V_2O_5 e consequente arraste para a solução condensada, o que pode causar interferências na determinação dos analitos por volumetria de neutralização, devido ao aumento da acidez da solução condensada.[16] Porém, a presença de V_2O_5 na solução final não causa o mesmo problema quando são usadas técnicas instrumentais, como espectrofotometria de absorção molecular no UV/Vis, potenciometria direta com eletrodo íon seletivo (ISE), cromatografia de íons (IC), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).

8.3. SISTEMAS DE PIROIDRÓLISE

Os sistemas de piroidrólise construídos na década de 1950[6-8] serviram como modelo para outros sistemas desenvolvidos posteriormente. O uso de diferentes materiais e dimensões levaram à modificações nos sistemas de piroidrólise. Porém, a configuração básica, originalmente proposta, tem sido mantida. Apesar da primeira aplicação analítica[6] da piroidrólise ter sido proposta para o preparo da amostra visando à determinação de flúor, os sistemas subsequentes têm sido aplicados para a decomposição de diversos tipos de amostras para a posterior determinação de outros elementos não metálicos, entre eles halogênios, boro e enxofre.

Na reação de piroidrólise, a liberação dos elementos da amostra depende, basicamente, da temperatura do reator, da forma química em que os elementos

estão presentes na amostra e da constituição da matriz. A liberação dos analitos ocorre entre 700 e 1400 °C, mas temperaturas em torno de 1000 °C são adequadas na maioria dos casos. Para o aquecimento do reator podem ser empregados fornos elétricos ou uma chama, como a obtida com o queimador de Meker. Em alguns casos, também são usadas combinações de queimadores e fornos.[15-17] Atualmente, os fornos com aquecimento elétrico são amplamente empregados, por permitir temperaturas mais elevadas e assegurar um melhor controle da temperatura do reator. Dependendo do sistema, é necessário que o forno seja desligado e arrefecido para a introdução da próxima amostra. Isso é um inconveniente do forno com aquecimento elétrico, pois o arrefecimento geralmente é lento. Entretanto, o forno pode permanecer ligado continuamente, quando um sistema mecânico é utilizado para introduzir e retirar o suporte da amostra da região aquecida do reator. Com isso, o tempo necessário para esta etapa pode ser reduzido de 30 para cerca de 5 min.[13]

Em razão dos reatores de piroidrólise serem aquecidos a temperaturas elevadas durante a decomposição e pelo fato de, no interior do tubo, ocorrer a passagem de vapor d'água superaquecido, juntamente com os ácidos resultantes da liberação dos analitos (HF, HCl, HBr e HI), os reatores utilizados devem ser de quartzo, sílica fundida, platina, níquel ou cerâmica.[1] Da mesma forma, os recipientes empregados para suportar a amostra são, geralmente, construídos com materiais similares. Porém, alguns materiais podem reagir com os analitos, possivelmente após sua volatilização da amostra na forma de vapor ácido, resultando em recuperações não quantitativas. Entre os materiais mais adequados para a confecção do reator e do suporte da amostra estão o quartzo e a sílica fundida.[19]

A unidade de geração de vapor d'água consiste, normalmente, de um recipiente aquecido contendo água deionizada. Alternativamente, a água pode ser nebulizada e o aerossol introduzido diretamente no reator aquecido[20] ou, ainda, através da sua volatilização a partir de um recipiente colocado na entrada do reator[21] ou de uma câmara fixada na região aquecida do reator. A quantidade de vapor produzida deve ser controlada de forma a garantir a formação dos produtos da reação de piroidrólise e evitar a passagem turbulenta de vapor, assim como a formação de gotas de água condensadas no suporte da amostra, pois estas podem projetar a amostra para fora do suporte.

O gás, além de transportar o vapor através do reator, pode ter a função de auxiliar na decomposição da amostra. Dessa forma, gases inertes, como nitrogênio

e argônio, tem somente a função de transportar o vapor d'água até o condensador e o frasco de coleta, enquanto ar e oxigênio podem auxiliar na decomposição de amostras orgânicas.[7,23]

O vapor d'água contendo os analitos, após sair do reator, deve ser imediatamente condensado o que, geralmente, é feito com o auxílio de um condensador conectado à saída do reator de piroidrólise. O condensador pode ser refrigerado com a passagem de um fluxo de água fria em contracorrente ou simplesmente imerso em banho de gelo.[25] Em sistemas de piroidrólise mais recentes, foram utilizadas placas refrigeradas por sistema *Peltier* para esta finalidade.[24] Porém, dependendo da característica do analito, podem ocorrer perdas por volatilização, quando o vapor d'água é somente condensado e recolhido.

Entre os halogênios, o cloro, bromo e iodo são mais facilmente perdidos, devido às características do próprio ácido formado na reação de piroidrólise ou pela formação de compostos voláteis na solução ácida condensada, tais como Br_2 e I_2. Assim, além do uso de um condensador, é necessário que o vapor d'água condensado seja absorvido em uma solução alcalina. Como soluções absorvedoras podem ser empregadas soluções diluídas de hidróxido de sódio, amônia, bicarbonato de sódio ou um tampão alcalino.

É importante salientar que a concentração e o volume da solução absorvedora dependem da quantidade de elementos presentes na amostra passíveis de formarem ácidos voláteis na reação de piroidrólise, uma vez que são formadas quantidades equivalentes do respectivo ácido. Portanto, quando uma solução absorvedora alcalina é usada, o pH desta deve ser mantido acima de 7 até o final da reação de piroidrólise. Outra possibilidade, quando a determinação dos analitos é feita por cromatografia de íons, é a utilização da própria fase móvel como solução absorvedora.[26]

Um aspecto importante a ser considerado na reação de piroidrólise é a introdução do suporte contendo a amostra no interior do reator. Para evitar perdas da amostra por projeção, o aquecimento deve ser feito de forma lenta e gradual. Portanto, quando é empregado aquecimento eletrotérmico, a amostra deve ser introduzida no reator quando o forno estiver próximo da temperatura ambiente. Isso implica no resfriamento do sistema entre a decomposição de sucessivas amostras, aumentando o tempo de execução. Alternativamente, é possível introduzir a amostra de forma lenta até a região aquecida do reator, promovendo o aquecimen-

to gradual da mesma, sem a necessidade de uma etapa de resfriamento entre cada amostra. Esta introdução pode ser feita de forma manual ou mecânica.[27]

Na Figura 8.2, está representado um sistema desenvolvido recentemente, onde um dispositivo para a introdução da amostra foi adaptado ao reator. Esse dispositivo é móvel e permite que o suporte da amostra seja introduzido de forma controlada no reator a partir da região fria, evitando o aquecimento repentino e a projeção da amostra. Além disso, para amostras orgânicas, o sistema pode ser controlado de forma que seja feita a combustão da mesma antes da reação de piroidrólise. Nesse caso, o gás de arraste deve ser ar ou oxigênio. Além da maior versatilidade, com este sistema de piroidrólise é possível reduzir o tempo de reação para cerca de 5 a 10 min, dependendo da matriz.[27]

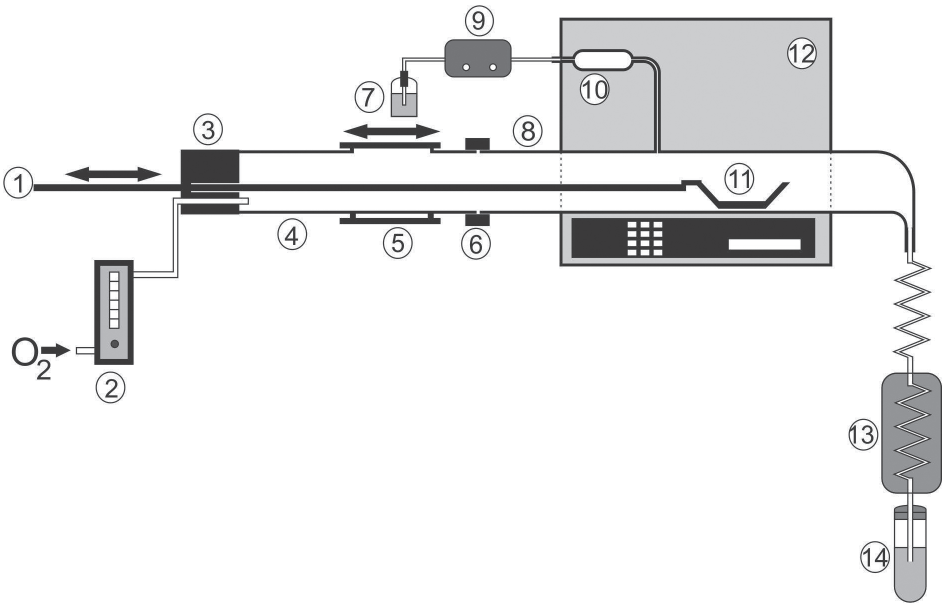

Figura 8.2. Esquema de um sistema para piroidrólise. 1) haste para movimentação do suporte da amostra; 2) rotâmetro com entrada de gás; 3) conector para entrada de gás (silicone ou PTFE); 4) tubo de vidro ou aço; 5) tubo móvel para inserir o suporte da amostra; 6) conector; 7) reservatório de água; 8) reator de quartzo; 9) bomba peristáltica; 10) câmara para geração de vapor d'água; 11) suporte da amostra; 12) unidade de aquecimento (forno); 13) condensador e 14) frasco coletor de amostra.[27]

8.4. APLICAÇÕES

A piroidrólise é uma alternativa viável, frente às limitações de outros métodos tradicionalmente empregados para o preparo de amostras sólidas contendo uma

fração mineral elevada, para posterior determinação de halogênios, boro e enxofre. Nesse caso, o método permite a volatilização dos analitos da matriz, não havendo, necessariamente, a decomposição completa da amostra. Dessa forma, ocorre a separação, ao menos parcial, dos analitos da matriz, o que minimiza interferências na etapa de determinação. Além disso, em diversos trabalhos, o método tem se destacado, também, para o preparo de amostras com matriz majoritariamente orgânica, tais como carvão, petróleo, coque de petróleo, nanotubos de carbono e materiais biológicos, o que evidencia a sua ampla aplicabilidade. Cabe destacar que a piroidrólise, além das diversas aplicações reportadas na literatura, é empregada por alguns laboratórios na certificação de materiais de referência e em normas oficiais, como a American Society for Testing and Materials (ASTM)[28], o que demonstra a importância e a utilidade do método.

Outra característica importante deste método é a pequena quantidade de resíduos gerados e o baixo consumo de reagentes, o que está de acordo com os princípios da química analítica verde.[29] Normalmente, emprega-se apenas uma solução levemente alcalina para a absorção dos produtos voláteis da reação de piroidrólise e o acelerador. Em alguns casos, principalmente para a determinação posterior de flúor, nenhuma solução ou apenas água é suficiente para a absorção do analito.

Em relação ao procedimento envolvido, a piroidrólise é um método bastante seguro, uma vez que são utilizados somente uma unidade para geração de vapor d'água, cujo volume pode ser pequeno, e um forno ou chama para aquecimento do reator. Portanto, há riscos reduzidos quanto à exposição a reagentes tóxicos ou corrosivos, emissão de radiação ou emprego de frascos com pressão elevada. Os principais cuidados que devem ser tomados são em relação à temperatura do reator e à geração de vapor.

Na Tabela 8.1 são mostrados os principais trabalhos encontrados na literatura envolvendo a piroidrólise como método de preparo de diversos materiais para a determinação subsequente de flúor, cloro, bromo, iodo, boro e enxofre. Pode ser observado um grande número de aplicações deste método voltadas para o preparo de materiais inorgânicos principalmente geológicos, com ênfase na determinação de flúor. Entretanto, em aplicações mais recentes, observa-se, também, o seu uso para o preparo de carvão, coque, nanotubos de carbono e amostras biológicas para a determinação de flúor, cloro, bromo e iodo. Adicionalmente, cabe destacar a sua utilização para a posterior determinação de Mo em materiais à base de urânio.[30] O uso de

acelerador é necessário para a decomposição da maioria dos materiais inorgânicos, mas a sua utilização depende, também, do elemento a ser determinado. O V_2O_5 é o acelerador mais utilizado, embora WO_3 e U_3O_8 também sejam empregados. De maneira geral, o tempo necessário para a reação de piroidrólise é de cerca de 10 min e a composição amostra + acelerador varia de 1 + 3 a 1 + 5.[25,26] Além disso, é importante salientar que a piroidrólise é bastante versátil em relação a quantidade de amostra a ser processada, podendo ser empregadas quantidades que vão de poucos miligramas até mais de 1 g.

Resumidamente, a piroidrólise é um método cuja implementação é relativamente simples e, na maioria dos casos, fornece resultados com exatidão e precisão adequadas. Dessa forma, este método pode ser uma alternativa de baixo custo para laboratórios que necessitam determinar halogênios, boro, molibdênio e enxofre, principalmente em amostras de difícil decomposição. Aplicações da pirohidrólise têm sido ampliadas para diferentes matrizes.[84]

Tabela 8.1. Aplicações da piroidrólise para o preparo de amostras e subsequente determinação de halogênios, boro, enxofre e molibdênio.

Analito	Técnica de determinação	Amostra	Acelerador	Características	Referência
B	ICP OES	Aço e outras ligas	V_2O_5/CuO	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1200 °C; solução absorvedora: KOH; tempo: 120 min; massa de amostra: 250 mg	50
B	Titrimetria ou Colorimetria	Aço, carbeto de boro e outras ligas	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora alcalina; tempo: 90 min	51
B	Titrimetria	Vidro	U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1350 °C; tempo: 90 min	52
B	ICP OES	Aço	Al_2O_3	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1300 °C; solução absorvedora: 80 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 50 min; massa de amostra: 1000 mg	53
B	ICP OES e ICP-MS	Carbeto de silício	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1050 °C; solução absorvedora: água; tempo: 20 min; massa de amostra: 200 mg	43
B	ICP-MS	Compostos de urânio-silício-alumínio (U_3Si_2-Al)	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1170-1220 °C; solução absorvedora: 200 mmol L^{-1} NH_4OH; tempo: 75 min; massa de amostra: 1000 mg	61

Tabela 8.1. Aplicações da piroidrólise para o preparo de amostras e subsequente determinação de halogênios, boro, enxofre e molibdênio. (cont.)

Analito	Técnica de determinação	Amostra	Acelerador	Características	Referência
B	ICP-MS	CRMs de materiais geológicos (granito, glauconito, arnotosito e outros)	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1200 °C; solução absorvedora: NaOH; tempo: 90 min; massa de amostra: 70 mg	34
B, F e Cl	IC	Combustíveis nucleares (U_3O_8, (Pu, U), C e ligas de Pu)	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 900 °C; solução absorvedora: 5 mmol L^{-1} $NaHCO_3$; tempo: 60 min; massa de amostra: 50-1500 mg	32
Br e I	ICP-MS	Nanotubos de carbono	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 950 °C; solução absorvedora: 100 mmol L^{-1} NH_4OH, tempo: 12,5 min, massa de amostra: 500 mg	9
Br e I	ICP-MS	Material particulado atmosférico de área urbana	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 950 °C; solução absorvedora: 50 mmol L^{-1} NH_4OH; tempo: 15 min; massa de amostra: 300 mg	60
Cl	DRC-ICP-MS	Coque de petróleo	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: 50 mmol L^{-1} NH_4OH ou Na_2CO_3; tempo: 10 min; massa de amostra: 300 mg	67
Cl	IC, ICP OES e DRC-ICP-MS	Petróleo	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: 0,75 mol L^{-1} NH_4OH; tempo: 10 min; massa de amostra: 300 mg	69
Cl	Colorimetria	Vidro	U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1050 °C; solução absorvedora: não foi usada; tempo: 15 min; massa de amostra: até 1000 mg	48
Cl	Titrimetria	Liga de titânio	U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: não foi usada; tempo: 45 min; massa de amostra: 1000-5000 mg	58
Cl	Colorimetria	Amostras geológicas (andesito, dunito e granodiorito)	$SiCl_4$	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1200 °C; solução absorvedora: 20 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 15 min; massa de amostra: 500-2000 mg	59
Cl	Colorimetria	Cimento Portland	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: água; tempo: 90 min; massa de amostra: até 100 mg	46
Cl e S	ICP OES (S) e IC (Cl)	Grafite de alta pureza		Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 50 mmol L^{-1} NH_4OH + 250 mmol L^{-1} H_2O_2; tempo: 30 min; massa de amostra: 250 mg	24

Tabela 8.1. Aplicações da piroidrólise para o preparo de amostras e subsequente determinação de halogênios, boro, enxofre e molibdênio. (cont.)

Analito	Técnica de determinação	Amostra	Acelerador	Características	Referência
F	ISE	Nanotubos de carbono		Forno com aquecimento eletrotérmico temperatura do reator: 950 °C; solução absorvedora: água; tempo: 10 min; massa de amostra: 500 mg	71
F	Titrimetria	UO_2F_2 e UF_4	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 900 °C; solução absorvedora: água; tempo: 15 min; massa de amostra: 100 mg	22
F	Titrimetria	Aluminossilicatos	V_2O_5	Aquecimento com chama; temperatura do reator: 700-800 °C; solução absorvedora: 0,1 mol L^{-1} NaOH; tempo: 30 min; massa de amostra: até 100 mg	14
F	ISE	Amostras geológicas e biológicas (carvão, rocha fosfática, material botânico e tecido de ostra)	V_2O_5	Aquecimento com chama; temperatura do reator: 1150 °C; solução absorvedora: água; tempo: 10 min; massa de amostra: até 120 mg	25
F, Cl, Br e I	IC (F, Cl e Br), ICP-MS (Br e I)	Carvão	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: tampão Na_2CO_3/$NaHCO_3$; massa de amostra: 0,5 g	26
F	ISE	Carvão	SiO_2	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: não foi usada; tempo: 30 min; massa de amostra: 500 mg	64
F	Colorimetria	Compostos organofluorados voláteis	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: água; tempo: 50 min; massa de amostra: 500 mg	35
F	Titrimetria	Compostos organofluorados aromáticos	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 900 °C; solução absorvedora: água; tempo: 30 min; massa de amostra: 3-5 mg	36
F	Titrimetria	Materiais radioativos	Al_2O_3	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: NaOH diluído; tempo: 60 min; massa de amostra: 10-60 mg	37
F	Titrimetria e colorimetria	ThF_4, AlF_3, ZrF_4, UO_2F_2, UF_4 e NpF_4	WO_3, U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 825-1000 °C; solução absorvedora: 2 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 30 min; massa de amostra: 10-2000 mg	19
F	Titrimetria	Fluoretos de Sc, Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb e Lu	Cr_2O_3, U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 975 °C; solução absorvedora: água; tempo: 30-150 min	39

Tabela 8.1. Aplicações da piroidrólise para o preparo de amostras e subsequente determinação de halogênios, boro, enxofre e molibdênio. (cont.)

Analito	Técnica de determinação	Amostra	Acelerador	Características	Referência
F	Titrimetria	Criolita e materiais similares	Al_2O_3, SiO_2, V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1200 °C; solução absorvedora: água; tempo: 15 min; massa de amostra: 250-1000 mg	40
F	ISE	Amostras diversas (PTFE, compostos organofluorados, NaF, BaF_2, CaF_2 e outros)	WO_3	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1120 °C; solução absorvedora: solução de CDTA alcalina; tempo: 10-20 min	41
F	ISE e IC	Carvão e minerais diversos	WO_3, SiO_2, V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: tampão Na_2CO_3/$NaHCO_3$ ou 0,025 mol L^{-1} NaOH; tempo: 15 min; massa de amostra: 250 mg	42
F	ISE	Carvão	-	Aquecimento do reator com chama; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 20 mmol L^{-1} Na_2CO_3; tempo: 15 min; massa de amostra: 250 mg	66
F	ISE	Carvão	SiO_2	Aquecimento do reator com chama; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 25 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 25 min; massa de amostra: 250 mg	44, 45
F	Titrimetria	Compostos organofluorados	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1255-1275 °C; solução absorvedora: água; tempo: 30-45 min; massa de amostra: 40-60 mg	57
F	ISE, IC	Carvão, cinzas e argila	V_2O_5, U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1250-1500 °C; solução absorvedora: solução de CDTA; tempo: 30-60 min	65
F, Br e I	ISE (F), ICP-MS (Br e I)	Suplemento mineral	V_2O_5	Aquecimento com chama; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: 50 mmol L^{-1} Na_2CO_3/$NaHCO_3$, tempo: 10 min	70
F e Cl	ISE (F), DRC-ICP-MS (Cl) e ICP OES (Cl)	Combustíveis fósseis	-	Forno com aquecimento eletrotérmico ou chama; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: 50 mmol L^{-1} NH_4OH ou Na_2CO_3; tempo: 10 min; massa de amostra: 300 mg	68
F e Cl	ISE (F), colorimetria (Cl)	Aluminossilicatos	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1230 °C; uso de nebulizador para a introdução de água; solução absorvedora: 0,2 mol L^{-1} NaOH; tempo: 15 min; massa de amostra: 500 mg	20

Tabela 8.1. Aplicações da piroidrólise para o preparo de amostras e subsequente determinação de halogênios, boro, enxofre e molibdênio. (cont.)

Analito	Técnica de determinação	Amostra	Acelerador	Características	Referência
F e Cl	ISE	CRMs de carvão e materiais geológicos (andesito, basalto, barita e outros)	$WO_3/SiO_2/KH_2PO_4$	Forno de indução; temperatura do reator: 1150 °C; solução absorvedora: nitrato de potássio + acetato de amônio pH 6,5	47
F e Cl	IC	CRMs de materiais geológicos e vidro	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; nebulizador para a introdução de água no sistema; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 0,125 mmol L^{-1} Na_2CO_3; tempo: 90 min; massa de amostra: 40 mg	38
F, Cl e Br	Titrimetria	Fluoretos e cloretos metálicos diversos	U_3O_8, Al_2O_3	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: água.	6
F, Cl, Br e I	IC (todos) e ICP-MS (Br e I)	CRMs de materiais geológicos, solo, leite, material botânico e tecido marinho	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 50 mg L^{-1} Na_2SO_3; tempo: 20 min; massa de amostra: até 1200 mg	63
F, Cl e S	IC	CRMs de materiais geológicos e aço	V_2O_5, U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1200 °C; solução absorvedora: 2,4 mmol L^{-1} Na_2CO_3, 3 mmol L^{-1} $NaHCO_3$ e 3% (m/v) H_2O_2; tempo: 25 min	54
F, Cl, Br e I	IC (F e Cl), ICP-MS (Br e I)	CRMs de materiais geológicos (basalto, obsidiana e rochas vulcânicas)	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator (quartzo): 1200 °C; solução absorvedora: 25 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 45 min; massa de amostra: 500 mg	72
F, Cl, Br e I	IC	Argila	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: 5,4 mmol L^{-1} Na_2CO_3 + 5,1 mmol L^{-1} $NaHCO_3$; tempo: 10 min; massa de amostra: 2000 mg	73
F, Cl, Br e I	IC	Carvão	SiO_2	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1050 °C; solução absorvedora: 7,2 mmol L^{-1} Na_2CO_3 + 6,8 mmol L^{-1} $NaHCO_3$ (pH 10,3); tempo: 25 min; massa de amostra: 1000 mg	55
F	ISE	Carvão	SiO_2	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1200 °C; solução absorvedora: 25 mmol L^{-1} NaOH (para F); tempo: 15 min; massa de amostra: 300 mg	46
F e I	Ativação neutrônica radioquímica (I) e ISE (F)	CRMs de materiais botânicos	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: $AgNO_3$ acidificada (para I) e 2,8 mol L^{-1} NaOH (para F); tempo: 10 min	62

Tabela 8.1. Aplicações da piroidrólise para o preparo de amostras e subsequente determinação de halogênios, boro, enxofre e molibdênio. (cont.)

Analito	Técnica de determinação	Amostra	Acelerador	Características	Referência
I	Colorimetria	Amostras geológicas (solo, bauxita, granito, tonalito e sienito)	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1060 °C; uso de nebulizador para introdução de água no sistema; solução absorvedora: 0,05 mol L^{-1} NaOH; tempo: 15 min; massa de amostra: até 1000 mg	49
I	Colorimetria	Carvão		Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 0,13 mol L^{-1} NaOH; tempo: 30 min; massa de amostra: 300 mg	31
Mo	IC	Minerais a base de U	-	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: 25 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 150 min; massa de amostra: 50-1000 mg	30
F, Cl e S	IC	Materiais geológicos (peridotito, basalto, gabro, andesito, reólito, sulfetos)	V_2O_5	Forno de SIC; temperatura do reator: 110 °C; solução absorvedora: 0-100 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 30 min; massa de amostra: 5-100 mg. Determinação da composição isotópica de Cl e S.	75
F, Cl, Br e I	IC	Vidros (CRM)	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 20 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 30 min; massa de amostra: 50-100 mg.	76
B, Cl e Mo	IC	Vegetais e solo	–	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; solução absorvedora: 5 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 115 min; massa de amostra: 500-1000 mg. Processo combinando combustão e piroidrólise.	77
B	IC	Ceras de parafina borada	U_3O_8	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 950 °C; solução absorvedora: 5 mmol L^{-1} NaOH; tempo: 135 min; massa de amostra: 100-200 mg. Processo combinando combustão e piroidrólise.	78
F	IC	Carvão	SiO_2	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1100 °C; massa de amostra: 500 mg. Processo combinando combustão e piroidrólise.	79
I	ICP-MS	Tecido de peixe	V_2O_5	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; solução absorvedora: 2% TMAH + 0,1% Na_2SO_4; tempo: 60 min; massa de amostra: 50-300 mg. Processo combinando combustão e piroidrólise.	80

Tabela 8.1. Aplicações da piroidrólise para o preparo de amostras e subsequente determinação de halogênios, boro, enxofre e molibdênio. (cont.)

Analito	Técnica de determinação	Amostra	Acelerador	Características	Referência
F, Cl, Br e I	ISE, IC e ICP-MS	Papelão hidráulico	–	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; tempo: 7,5 min; massa de amostra: 300 mg. Processo combinando combustão e piroidrólise.	81
F, Cl, Br e I	IC e ICP-MS	Solo	–	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1000 °C; tempo: 12 min; massa de amostra: 400 mg + 400 mg celulose microcristalina, solução absorvedora: 25 mmol L^{-1}. Processo combinando combustão e piroidrólise.	82
B	IC	Liga Zn/Nb	–	Forno com aquecimento eletrotérmico; temperatura do reator: 1230 °C; solução absorvedora: NaOH diluído; tempo: 120 min; massa da amostra: 100 mg	83

REFERÊNCIAS

1. ŠULCEK, Z.; POVONDRA, P. **Methods of Decomposition in Inorganic Analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 325 p.
2. FREMY, A. **Annales de Chimie et de Physique,** 47, 17, 1856. In: SOBOLEV, B. P.; **The Rare Earth Trifluorides. Part 2: Introduction to materials science of multicomponent metal fluoride crystals**. Barcelona: Institut d'Estudis Catalans, 2001. 463 p.
3. HEMPEL, W. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, 23, p. 3388, 1890. In: BOCK, R. **A Handbook of Sample Decomposition Methods in Analytical Chemistry**. Glasgow: International Textbook, 1979. 444 p.
4. PRIDEAUX, E.B.R.; ROPER E.C. **Journal of Chemical Society**, p. 898, 1926. Apud BOCK, R. **A Handbook of Sample Decomposition Methods in Analytical Chemistry**. Glasgow: International Textbook, 1979, 444 p.
5. WARF, J.C. **Analytical Chemistry of the Manhattan Project**, National Nuclear Energy Series, first Ed., Division VIII, v. 1, New York: McGraw-Hill, 1950. 729 p. In: WARF, J.C.; CLINE, W.D.; TEVEBAUGH, R.D. Pyrohydrolysis in the determination of fluoride and other halides. **Analytical Chemistry**, 26, p. 342-346, 1954.
6. WARF, J.C.; CLINE, W.D.; TEVEBAUGH, R.D. Pyrohydrolysis in the determination of fluoride and other halides. **Analytical Chemistry**, 26, 342-346, 1954.
7. DOMANGE, L. **Annali di Chimica**, v.7, p. 225, 1937. In: WARF, J.C.; CLINE, W.D.; TEVEBAUGH, R.D. Pyrohydrolysis in the determination of fluoride and other halides. **Analytical Chemistry**, 26, 342-346, 1954.

8. DOMANGE, L.; WOHLHUTER, M. **Comptes Rendus Chimie**, 228, 1591, 1949. In: WARF, J.C.; CLINE, W.D.; TEVEBAUGH, R.H. Pyrohydrolysis in the determination of fluoride and other halides. **Analytical Chemistry**, 26, 342-346, 1954.

9. ANTES, F.G.; PEREIRA, J.S.F.; ENDERS, M.S.P.; MOREIRA, C.M.M.; MÜLLER, E.I.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Pyrohydrolysis of carbon nanotubes for Br and I determination by ICP-MS. **Microchemical Journal**, 101, 54-58, 2012.

10. CONRAD, V.B.; BROWNLEE, W.D. Hydropyrolytic-ion chromatographic determination of fluoride in coal and geological materials. **Analytical Chemistry**, 60, 365-369, 1988.

11. McKINLEY, G.J.; WENDT, H.F. Determination of boron in refractory borides by pyrohydrolysis. **Analytical Chemistry**, 37, 947-950, 1965.

12. HALL, G.E.M.; VAIVE, J.A. Determination of sulfur at low-levels in standard reference materials by pyrohydrolysis/ion chromatography. **Geostandards Newsletter**, 13, 1-4, 1989.

13. PONIKVAR, M.; LIEBMAN, J.F. Paradoxes and paradigms: observations on pyrohydrolytic decomposition of fluorine-containing materials and accompanying thermochemistry. **Structural Chemistry**, 17, 75-78, 2006.

14. NEWMAN, A.C.D. A simple apparatus for separating fluorine from aluminosilicates by pyrohydrolysis. **Analyst**, 93, 827-831, 1968.

15. NEBESAR, B. High-temperature analytical uses of vanadium (V) oxide. **Talanta**, 25, 185-194, 1978.

16. BOCK, R. **A Handbook of Sample Decomposition Methods in Analytical Chemistry**. Glasgow: International Textbook, 1979. 444 p.

17. FEIST, M.; KEMNITZ, E. Applications of *PulseTA*® to the investigation of fluorides. An attempt to calibrate HF. **Thermochimica Acta**, 446, 84-90, 2006.

18. ANTES, F.G. **Decomposição de coque, resíduo de vácuo e petróleo extrapesado por piroidrólise para a determinação de cloro**. Santa Maria, UFSM, Programa de Pós-Graduação em Química, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS: Dissertação de Mestrado, 2007, 114 p.

19. POWEL, R. H.; MENIS, O. Separation of fluoride from inorganic compounds by pyrolysis. **Analytical Chemistry**, 30, 1546-1549, 1958.

20. WHITEHEAD, D.; THOMAS, J.E. Use of a nebulizer in pyrohydrolytic decomposition of silicate materials for determination of fluorine and chlorine. **Analytical Chemistry**, 57, 2421-2423, 1985.

21. CLEMENTS, R.L.; SERGEANT, G.A.; WEBB, P.J. The determination of fluorine in rocks and minerals by a pyrohydrolytic method. **Analyst**, 96, 51-54, 1971.

22. HIBBITS, J.O. Precision of the pyrohydrolytic determination of fluoride and uranium in uranyl fluoride and uranium tetrafluoride. **Analytical Chemistry**, 29, 1760-1762, 1957.

23. BERNS, E.G.; VAN DER ZWAAN, P.W. The pyrohydrolytic determination of fluoride. **Analytica Chimica Acta**, 59, 293-297, 1972.

24. NUNES, T.S.; MULLER, C.C.; BALESTRIN, P.; MULLER, A.L.H.; MESKO, M.F.; MELLO, P.A.; MULLER, E.I. Determination of chlorine and sulfur in high purity flexible graphite using ion chromatography (IC) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) after pyrohydrolysis sample preparation. **Analytical Methods**, 7, 2129-2134, 2015.

25. DRESSLER, V.L.; POZEBON, D.; FLORES, E.L.M.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M. Potentiometric determination of fluoride in geological and biological samples following pyrohydrolytic decomposition. **Analytica Chimica Acta**, 466, 117-123, 2002.

26. BETTINELLI, M.; SPEZIA, S.; MINOIA, C.; RONCHI, A. Determination of chlorine, fluorine, bromine, and iodine in coals with ICP-MS and IC. **Atomic Spectroscopy**, 23, 105-110, 2002.

27. ROSSI, N.H. **Desenvolvimento de sistema para piroidrólise para o preparo de papelão hidráulico visando a determinação de halogênios**. Santa Maria, UFSM, Programa de Pós-Graduação em Química, PPGQ, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS: Dissertação de Mestrado, 2014, 85 p.

28. American Society for Testing and Materials. **ASTM D5987-96(2007): Standard test method for total fluorine in coal and coke by pyrohydrolytic extraction and ion selective electrode or ion chromatograph methods**. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA, 2007.

29. ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M., Green analytical chemistry. **TrAc Trends in Analytical Chemistry**, 27, 497-511, 2008.

30. MISHRA, V.G.; THAKUR, U.K.; SHAH, D.J; GUPTA, N.K.; JEYAKUMAR, S. TOMAR, B. S.; RAMAKUMAR, K. L. Direct separation of molybdenum from solid uranium matrices employing pyrohydrolysis, a green separation method, and its determination by ion chromatography. **Analytical Chemistry**, 87, 10728-10733, 2015.

31. WU, D.; DENG, H.; Zheng, B.; Wang, W.; Tang, X.; Xiao, H. Iodine in Chinese coals and its geochemistry during coalification. **Applied Geochemistry**, 23, 2082-2090, 2008

32. JEYAKUMAR, S.; RAUT, V.V.; RAMAKUMAR, K.L. Simultaneous determination of trace amounts of borate, chloride and fluoride in nuclear fuels employing ion chromatography (IC) after their extraction by pyrohydrolysis. **Talanta**, 76, 1246-1251, 2008.

33. NARDOZZI, M.J.; LEWIS, L.L. Pyrolytic separation and determination of fluoride in raw materials. **Analytical Chemistry**, 33, 1261-1264, 1961.

34. MICHEL, A.; NOIREAUX, J.; THARAUD, M. Determination of boron concentration in geochemical reference materials extracted by pyrohydrolysis and measured by ICP-MS. **Geostandards and Geoanalytical Research**, 39, 489-495, 2015.

35. SCHUMB, W.C.; RADIMER, K.J. Semimicro determination of fluorine in volatile organic compounds. **Analytical Chemistry**, 20, 871-874, 1948.

36. CLARK, H.S. Determination of fluorine in organic compounds. **Analytical Chemistry**, 23, 659-661, 1951.

37. LEE, J.E.; EDGERTON, J.H.; KELLEY, M.T. Pyrohydrolytic separation and spectrophotometric titration of fluorides in radioactive samples. **Analytical Chemistry**, 28, 1441-1443, 1956.

38. WANG, Q.; MAKISHIMA, A.; NAKAMURA, E. Determination of fluorine and chlorine by pyrohydrolysis and ion chromatography: comparison with alkaline fusion digestion and ion chromatography. **Geostandards and Geoanalytical Research**, 34, 175-183, 2010.

39. BANKS, C.V.; BURKE, K.E.; O'LAUGHLIN, J.W. The determination of fluorine in rare earth fluorides by high temperature hydrolysis. **Analytica Chimica Acta**, 19, 239-243, 1958.

40. SILVERMAN, H.P.; BOWEN, F.J. Pyrohydrolysis of cryolite and other fluoride-bearing materials. **Analytical Chemistry**, 31, 1960-1965, 1959.

41. VAN LEUVEN, H.C.E.; ROTSCHEID, G.J.; BUIS, W.J. Rapid general micro-determination of fluorine. **Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie**, 296, 36-39, 1979.

42. DOOLAN, K.J. A pyrohydrolytic method for the determination of low fluorine concentrations in coal and minerals. **Analytica Chimica Acta**, 202, 61-73, 1987.

43. MULLER, C.C.; NUNES, T.S.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M.; MULLER, E.I. Determination of boron in silicon carbide by ICP-OES and ICP-MS after sample preparation using pyrohydrolysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 26, 110-116, 2015

44. MARTINEZ-TARAZONA, M.R.; SUAREZ-FERNANDEZ, G.P.; CARDIN, J.M. Fluorine in asturian coals. **Fuel**, 73, 1209-1213, 1994.

45. GODBEER, W.G.; SWAINE, D.J.; GOODARZI, F. Fluorine in canadian coals. **Fuel**, 73, 1291-1293, 1994.

46. DUARTE, F.A.; PEREIRA, E.R.; FLORES, E.L.M.; MULLER, E.I.; FLORES, E.M.M; DRESSLER, V.L. Determinação espectrofotométrica de cloreto em cimento após preparo de amostra por piroidrólise. **Química Nova**, 36, 716-719, 2013.

47. RICE, T.D. Determination of fluorine and chlorine in geological-materials by induction furnace pyrohydrolysis and standard-addition ion-selective electrode measurement. **Talanta**, 35, 173-178, 1988.

48. CALDWELL, V.E. Determination of chloride in glass by pyrohydrolysis. **Analytical Chemistry**, 38, 1249-1250, 1966.

49. RAE, J.E.; MALIK, S.A. The determination of iodine in geochemical samples: the use of pyrohydrolytic decomposition. **Chemosphere**, 33, 2121-2128, 1996.

50. HAMNER, R.M.; DE'AETH, L.A. Determination of boron in silicon-bearing alloys, steel, and other alloys by pyrohydrolysis and inductively-coupled argon-plasma spectroscopy. **Talanta**, 27, 535-536, 1980.

51. WIEDERKEHR, V.R.; GOWARD, G.W. Separation of boron from alloys and other materials by pyrohydrolysis. **Analytical Chemistry**, 31, 2102-2103, 1959.

52. WILLIAMS, J.P.; CAMPBELL, E.E.; MAGLIOCCA, T.S. Determination of boric oxide in glass by pyrohydrolysis separation. **Analytical Chemistry**, 31, 1560-1563, 1959.

53. CIBA, J.; SMOLEC, B. Determination of boron in steel by an ICP emission spectrometric technique. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 348, 215-217, 1994.

54. MOORE, C.B.; EVANS, K.L.; TARTER, J.G. Pyrohydrolytic-ion chromatographic determination of fluorine, chlorine, and sulfur in geological samples. **Analytical Chemistry**, 53, 925-928, 1981.

55. PENG, B.; WU, D.; LAI, J.; XIAO, H.; LI, P. Simultaneous determination of halogens (F, Cl, Br, and I) in coal using pyrohydrolysis combined with ion chromatography. **Fuel**, 94, 629-631, 2012.

56. IWASAKI, M.; ISHIKAWA, N. Pyrohydrolysis reactions of UF_4 and UO_2F_2 - effect of oxygen on reactions. **Journal of Nuclear Science and Technology**, 20, 400-404, 1983.

57. MILNER, O.I. Determination of fluorine (and carbon) in fluorinated hydrocarbons. **Analytical Chemistry**, 22, 315-317, 1950.

58. GAHLER, A.R.; PORTER, G. Pyrohydrolytic determination of chloride in titanium sponge. **Analytical Chemistry**, 29, 296-298, 1957.

59. FARZANEH, A.; TROLL, G. Pyrohydrolysis for the rapid determination of chlorine traces in silicate and non-silicate minerals and rocks. **Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie**, 292, 293-295, 1978.

60. PICOLOTO, R.S.; CRUZ, S.M.; MELLO, P.A.; MULLER, E.I.; SMICHOWSKI, P.; FLORES, E.M.M. Combining pyrohydrolysis and ICP-MS for bromine and iodine determination in airborne particulate matter. **Microchemical Journal**, 116, 225-229, 2014.

61. SAHA, A.; SHAH, D.; DEB, S.B.; SAXENA, M.K.; MISHRA, V.G.; NAGAR, B.K.; TOMAR, B.S. Simultaneous quantification and isotope ratio measurement of boron in uranium-silicon-aluminium compounds by inductively coupled plasma orthogonal acceleration time of flight mass spectrometry (ICP-oa-TOFMS) after its separation by pyrohydrolysis. **Microchemical Journal**, 121, 56-64, 2015.

62. LANGENAUER, M.; KRÄHENBÜLHL, U. Determination of fluorine and iodine in biological materials. **Analytica Chimica Acta**, 274, 253-256, 1993.

63. SCHNETGER, B.; MURAMATSU, Y. Determination of halogens, with special reference to iodine, in geological and biological samples using pyrohydrolysis for preparation and inductively coupled plasma mass spectrometry and ion chromatography for measurement. **Analyst**, 121, 1627-1631, 1996.

64. GAO, G.; YAN, B.; YANG, L. Determination of total fluorine in coal by the combustion--hydrolysis/fluorine-ion selective electrode method. **Fuel**, 63, 1552-1555, 1984.

65. QUEVAUVILLER, P.; VAN DER STAAK, H.; VAN LOENEN, D.; LINGERAK, W.; GRIEPINK, B. Certified reference materials for the quality control of fluorine in coal, fly ash and clay. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 350, 101-108, 1994.

66. SREDOVIĆ, l. RAJAKOVIĆ, L. Pyrohydrolytic determination of fluorine in coal: A chemometric approach. **Journal of Hazardous Materials**, 177, 445-451, 2010.

67. ANTES, F.G.; DUARTE, F.A.; PANIZ, J.N.G.; SANTOS, M.F.P; GUIMARÃES, R.C.L.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Chlorine determination in petroleum coke using pyrohydrolysis and DRC-ICP-MS. **Atomic Spectroscopy**, 29, 157-164, 2008.

68. ANTES, F.G.; DUARTE, F.A.; FLORES, E.L.M.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Preparo de amostras de combustíveis fósseis por piroidrólise para a determinação de flúor e cloro. **Química Nova**, 33, 1130-1134, 2010.

69. ANTES, F.G.; PANIZ, J.N.G.; SANTOS, M.F.P; GUIMARÃES, R.C.L.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Heavy crude oil sample preparation by pyrohydrolysis for further chlorine determination. **Analytical Methods**, 3, 288-293, 2011.

70. TAFLIK, T.; DUARTE, F.A.; FLORES, E.L.M.; ANTES, F.G.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Determination of bromine, fluorine and iodine in mineral supplements using pyrohydrolysis for sample preparation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23, 488-495, 2012.

71. ANTES, F.G.; PEREIRA, J.S.F.; SPADOA, L.C.; MÜLLER, E.I.; FLORES, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Fluoride determination in carbon nanotubes by ion selective electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23, 1193-1198, 2012.

72. BALCONE-BOISSARD, H.; MICHEL, A.; VILLEMANT, B. Simultaneous determination of fluorine, chlorine, bromine and iodine in six geochemical reference materials using pyrohydrolysis, ion chromatography and inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Geostandards and Geochemical Research,** 33, 477-485, 2009.

73. PENG, B-X.; WU, D.S. Simultaneous rapid determination of halogens in clay using pyrohydrolysis combined with ion chromatography. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 41, 1499-1504, 2013.

74. PENG, B.; WU, D.; LAI, J.; XIAO, H.; LI, P. Simultaneous determination of halogens (F, Cl, Br, and I) in coal using pyrohydrolysis combined with ion chromatography. **Fuel**, 94, 629-631, 2012.

75. SHIMIZU,K.; SUZUKI, K.; SAITOH, M.; KONNO, U.; KAWAGUCCI, S.; UENO, Y. Simultaneous determinations of fluorine, chlorine, and sulfur in rock samples by ion chromatography combined with pyrohydrolysis. **Geochemical Journal**, 49, 113-124, 2015.

76. MARKS, M.A.W.; KENDRICK, M.A.; EBY, G.N., ZACK, T.; WENZEL, T. The F, Cl, Br and I contents of reference glasses BHVO-2G, BIR-1G, BCR-2G, GSD-1G, GSE-1G, NIST SRM 610 and NIST SRM 612. **Geostandards and Geoanalytical Research**, 41, 107-122, 2016.

77. MISHRA, V.G.; DAS, M.K.; SHAH, D.J.; JEYAKUMAR, S.; TOMAR, B.S.; RAMAKUMAR, K.L. Simultaneous determination of borate, chloride and molybdate in pyrohydrolysis distillates of plant and soil samples by ion chromatography. **Journal of Chromatography A**,1532, 144-149, 2018.

78. RAUT, V.V; JEYAKUMAR, S.; SHAH, D.J.; THAKUR, U.K.; TOMAR, B.S.; RAMAKUMAR, K.L. Separation of boron from borated paraffin wax by pyrohydrolysis and alkali extraction methods and its determination using ion chromatography. **Analytical Sciences**, 31, 219-223, 2015.

79. XIE, P.; GUO, W.; YAN, X.; ZHENG, X. Fluorine in Lopingian superhigh-organic-sulfur coals from the Lalang Coal Mine, Guangxi, southern China. **Fuel**, 208, 483-490, 2017.

80. KUSUNO, H.; MATSUZAKI, H.; NAGATA, T.; MIYAIRI, Y.; YOKOYAMA, Y.; OHKOUCHI, N. An approach for measuring the $^{129}I/^{127}I$ ratio in fish samples. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, 361, 414-418, 2015.

81. HOFMANN, N.R.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M.; PEDROTTI, M.F.; DRESSLER, V.L. Determination of halogens in cardboard gaskets using pyrohydrolysis. **Analytical Letters**, 49, 1903-1916, 2016.

82. PEREIRA, L.S.F.; PEDROTTI, M.F.; DALLA VECCHIA, P.; PEREIRA, J.S.F.; FLORES, E.M.M. A simple and automated sample preparation system for subsequent halogens determination: Combustion followed by pyrohydrolysis. **Analytica Chimica Acta**, 1010, 29-36, 2018.

83. MISHRA, V.G.; THAKUR, U.K.; SHAH, D.J.; DAS, M.K.; JEYAKUMAR, S.; RAMANJANEYULU, P.S. Pyrohydrolysis separation of percentile level boron in borated Zr-Nb alloy and its determination by ion chromatography. **Separation Science and Technology**, 2018. DOI: 10.1080/01496395.2018.1546742.

84. MISHRA, V.G.; JEYAKUMAR, S. Pyrohydrolysis, a clean separation method for separating non-metals directly from solid matrix. **Open Access Journal of Science**, 2(6), 389-393, 2018.

Capítulo 9

DECOMPOSIÇÃO DE MATERIAIS ORGÂNICOS POR VIA ÚMIDA

Juliano Smanioto Barin
Cezar Augusto Bizzi
Érico Marlon de Moraes Flores
Joaquim Araújo Nóbrega
Francisco José Krug

9.1. DECOMPOSIÇÃO EM SISTEMAS ABERTOS

De modo semelhante aos procedimentos descritos para sólidos inorgânicos (Capítulo 7), muitas amostras de natureza orgânica (tecidos biológicos, plantas, polímeros etc) podem ser decompostas usando um ácido mineral oxidante concentrado. Em geral, os procedimentos empregados para a decomposição de materiais orgânicos ou biológicos por via úmida implicam em aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante concentrado, de misturas de ácidos oxidantes, ou mistura de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio. O termo digestão também pode ser usado como sinônimo de decomposição de materiais orgânicos. Em geral, é possível oxidar a maioria dos compostos orgânicos presentes nas amostras. Os elementos a serem determinados permanecem, então, dissolvidos em uma solução ácida. A ação oxidante do ácido pode ser potencializada com o uso de uma fonte de energia externa para a obtenção de temperaturas elevadas, durante um intervalo de tempo adequado.

Os ácidos com propriedades oxidantes usados na decomposição por via úmida de amostras orgânicas ou biológicas são o nítrico, o sulfúrico e o perclórico. Esses ácidos podem ser usados individualmente (exceto $HClO_4$) ou combinados entre si ou com H_2O_2. Cabe salientar que há diversas restrições ao uso do ácido perclórico. Trabalhos mais recentes têm demonstrado que o uso de sistemas de decomposição mais eficientes e com outros reagentes pode ser uma alternativa viável para a maior parte dos casos em que o ácido perclórico tem sido empregado.

A decomposição por via úmida é particularmente útil para a determinação posterior de baixas concentrações de elementos em vários tipos de amostras. Muitos analitos são convertidos em formas inorgânicas simples não voláteis e estáveis em meio ácido, incluindo espécies de nitrogênio, fósforo e enxofre. Entretanto, alguns elementos podem ser perdidos, completa ou parcialmente, por volatilização. Os halogênios, o antimônio, o arsênio, o boro, o mercúrio e o selênio são exemplos, mas as perdas são dependentes do procedimento utilizado e da composição da amostra avaliada.

Fontes de erro frequentemente encontradas em procedimentos analíticos para a determinação de elementos metálicos e não metálicos são devidas aos efeitos causados por substâncias orgânicas não decompostas, que interferem na etapa de determinação, ou afetam a recuperação de elementos-traço em etapas de pré-

-concentração e/ou separação. Esse pode ser o caso de métodos eletroanalíticos como a voltametria ou potenciometria com eletrodos íon seletivos. No entanto, dependendo do método analítico empregado (*e.g.* espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite), isso pode não ser crítico (Tabela 9.1). Em alguns casos, a determinação pode ser feita diretamente nas amostras sólidas sem interferência da matéria orgânica presente nas mesmas, como na espectrometria de fluorescência de raios X e análise por ativação neutrônica instrumental. Maiores detalhes sobre a análise direta de amostras sólidas são descritos no Capítulo 5.

Tabela 9.1. Características de diferentes métodos analíticos com relação à presença de matéria orgânica nos digeridos e a possibilidade de análise direta em amostras sólidas. Adaptada com autorização da Springer-Verlag Berlin Heidelberg.[1]

Métodos analíticos	Limite de detecção típico (solução)	Grau de decomposição requerido	Possibilidade de determinação direta em sólidos
FAAS	< mg L^{-1}	médio	médio
HGAAS	≤ µg L^{-1}	médio	baixo
CVAAS	≤ µg L^{-1}	médio	baixo
CVAFS	ng L^{-1}	médio	baixo
ETAAS	< µg L^{-1}	baixo	alto
ICP OES	< mg L^{-1}	médio	médio
ICP-MS	ng L^{-1}	alto	médio
DPASV	< µg L^{-1}	alto	baixo
ISE	mg L^{-1}	alto	baixo
XRF	mg kg^{-1}	não	alto
INAA	< µg kg^{-1}	não	alto

Abreviaturas: FAAS, espectrometria de absorção atômica com chama; HGAAS, espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos; CVAAS, espectrometria de absorção atômica com vapor frio; CVAFS, espectrometria de fluorescência atômica com vapor frio; ETAAS, espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica; ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado; ICP-MS, espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; DPASV, voltametria de varredura anódica com pulso diferencial; ISE, potenciometria com eletrodo íon-seletivo; XRF, espectrometria de fluorescência de raios X; INAA, análise por ativação neutrônica instrumental.

Convencionalmente, quando se obtém uma solução límpida e incolor, assume-se que a matéria orgânica foi eficientemente oxidada. Entretanto, tal supo-

sição não é necessariamente verdadeira para todos os casos. Muitos compostos orgânicos podem ser decompostos apenas parcialmente, permanecendo dissolvidos na solução sem, necessariamente, conferir coloração ao digerido. Informações quantitativas e, portanto, mais confiáveis sobre a eficiência de digestão da matéria orgânica, podem ser obtidas com a quantificação de carbono residual na solução obtida após a digestão, o que permite inferir quanto à eficiência de decomposição (detalhes no Capítulo 2). A quantificação do carbono residual é de extrema importância, especialmente se a quantidade de carbono interferir na etapa de determinação. Várias formas de expressar a eficiência de decomposição de amostras orgânicas são relatadas na literatura. Dentre as mais importantes, podem-se elencar: *i*) o teor de carbono residual (RCC, do inglês *residual carbon content*), o qual representa a massa de carbono solúvel no digerido final em relação à massa de carbono inicialmente presente na matriz, normalmente expresso em porcentagem e *ii*) o teor de carbono orgânico dissolvido (DOC, do inglês *dissolved organic carbon*), que consiste na concentração de carbono presente no digerido final, normalmente expresso em mg L^{-1} (sem relacionar com a massa inicial de carbono). O RCC fornece informação importante sobre a eficiência de decomposição e, dessa forma, quão próximo o procedimento está da oxidação total da matéria orgânica a CO_2. O DOC representa informação importante para a etapa de determinação, uma vez que indica a quantidade de carbono que será introduzida nos equipamentos utilizados para a determinação elementar. Assim, ambos RCC e DOC são parâmetros importantes para a avaliação de digeridos com relação à previsão de interferências por efeito de matriz ou espectrais na determinação elementar. Cabe ressaltar que nos casos em que sobrem partículas sólidas não decompostas nos digeridos finais, não há sentido em expressar o RCC.

Ácidos inorgânicos fortes, como HNO_3, $HClO_4$ e H_2SO_4, são os mais empregados na decomposição de amostras orgânicas por via úmida. Ácido fluorídrico é empregado especialmente nos casos de amostras orgânicas com alto teor de cinzas ou, com menor frequência, no caso de plantas, conforme discutido a seguir. Algumas substâncias são difíceis de serem decompostas com um único ácido e uma combinação de dois ou mais ácidos é frequentemente empregada, pois interações mútuas em misturas ácidas podem gerar compostos intermediários que aceleram substancialmente a decomposição. Em muitos casos, um determinado ácido é indispensável para a decomposição de uma amostra em particular e precisa estar

presente na mistura. Esse ácido, normalmente em maior proporção, não somente determina a taxa e a extensão da decomposição, mas também pode afetar a escolha do método analítico.

Em sistemas abertos, as seguintes observações devem ser consideradas para a decomposição de matrizes orgânicas:

a) É difícil oxidar completamente as amostras utilizando somente HNO_3 (esse ácido tem a menor temperatura de ebulição dos ácidos citados anteriormente). Se, por um lado, a menor temperatura do azeótropo formado com água (121 ºC) facilita a remoção do ácido nítrico após a oxidação/decomposição, por outro a baixa temperatura limita a eficiência de oxidação da matéria orgânica;

b) $HClO_4$ apresenta alto poder de oxidação mas, quando utilizado isoladamente, torna-se perigoso devido ao risco iminente de explosão, provocada pela formação de percloratos instáveis. Na prática, recomenda-se usar o ácido perclórico sempre em combinação com outro ácido (em geral utiliza-se após decomposição prévia com ácido nítrico). Por razões de segurança, seu uso vem sendo paulatinamente reduzido, sendo inclusive proibido em diversos laboratórios;

c) H_2SO_4 seria o mais indicado dos três ácidos para ser usado isoladamente, tendo em vista sua elevada temperatura de ebulição. Esse ácido é um excelente desidratante, mas o processo de oxidação é bastante lento. Na maioria dos casos, o H_2SO_4 é utilizado em combinação com HNO_3, $HClO_4$ ou H_2O_2, mas o uso com perclórico é muito perigoso. Apresenta especial destaque na determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl, quando combinado com H_2O_2 e um catalisador, aplicação abordada em seção dedicada deste capítulo. Em digeridos sulfúricos, pode-se determinar outros elementos, como Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn;

d) Para propósitos gerais em sistemas abertos, no entanto, prefere-se uma mistura de ácidos, ou ácidos usados sequencialmente. Dois exemplos importantes são:

- H_2SO_4 e HNO_3 - Aquecer inicialmente a amostra com H_2SO_4 até o aparecimento de fumos resultantes da decomposição do ácido. Então, adiciona-se HNO_3 gota a gota e, após, em maiores alíquotas para completar a oxidação;
- HNO_3 e $HClO_4$ - Oxidar inicialmente o material somente com HNO_3 (restará apenas o material mais difícil de se oxidar, *i.e.* que não é oxidado

pelo HNO_3 a 121 °C); resfriar a mistura e adicionar, cuidadosamente, $HClO_4$ e reaquecer para completar a oxidação. Dessa forma, o uso do $HClO_4$ é relativamente seguro, mas nunca deve-se deixar a solução secar devido ao risco de explosão.

e) HF: em muitos casos, as amostras orgânicas (*e.g.* plantas, carvão e solos) podem apresentar uma fração mineral considerável que é insolúvel nos ácidos utilizados para oxidação da matéria orgânica. Assim, alguns elementos (*e.g.* Al, Cr e Fe) podem ficar retidos nessa fração, que necessita ser dissolvida para completa recuperação dos mesmos. Nos casos em que essa fração mineral seja composta por silicatos, HF pode ser utilizado para a dissolução completa da amostra:

$$SiO_2 + 6\ HF \rightarrow H_2SiF_6 + 2\ H_2O \quad (1)$$

Para evitar interferências na etapa de determinação, o ácido fluorossilícico pode ser separado da matriz à quente por volatilização em sistema aberto com ácido sulfúrico, nítrico ou perclórico:

$$H_2SiF_6 \rightarrow SiF_4 + 2\ HF \quad (2)$$

O mascaramento do íon fluoreto com ácido bórico pode também ser usado para evitar interferências, desde que respeitada a compatibilidade com o método de determinação. Cabe ressaltar que recipientes de vidro e quartzo não podem ser usados quando HF for empregado.

O uso de HF pode ser importante também para a recuperação de alguns elementos, mesmo para amostras com baixo teor de cinza. Polkowska-Motrenko *et al*. avaliaram diferentes métodos de digestão de plantas (conteúdo de sílica < 1%) para determinação de Co empregando análise por ativação neutrônica e encontraram erros sistemáticos de até 14% dependendo das condições de preparo das amostras.[2] Verificou-se que boas recuperações foram obtidas apenas quando a quantidade de HF foi aumentada para 15 mL após digestão prévia de 150 mg de amostra com 10 mL de HNO_3 e 2 mL de $HClO_4$ em bloco digestor, indicando que a maior parte do elemento se encontrava ligada à fração mineral das amostras.[2]

Um procedimento para a decomposição de amostras de materiais vegetais, utilizado no CENA-USP, desde 1975, é descrito a seguir. Pesam-se 500 mg de amostra em tubo de digestão aferido a 50-100 mL, acrescentam-se 5 mL de HNO_3 65% (m/m) e deixa-se a mistura em repouso por 1 a 2 h ou, preferivelmente, por cerca de 12 h para iniciar a digestão dos compostos mais facilmente oxidáveis. Após esse intervalo (nota-se a formação de uma suspensão amarelo-alaranjada), os tubos são colocados no bloco de digestão seguido de aquecimento do bloco digestor até 160 °C. Retira-se cuidadosamente o suporte com os tubos do bloco; a mistura pode ser perdida pelas paredes de algum tubo, devido à evolução de CO_2, eventualmente gerado pela reação com material sólido não digerido. Quando a maior parte do HNO_3 tiver evaporado e a solução estiver clara (translúcida ou levemente amarelada), observa-se, também, que a evolução de fumos marrons de NO_2 é pequena, comparativamente ao início da digestão sob aquecimento. Essa é uma indicação de que boa parte da matéria orgânica, passível de reação com HNO_3, foi oxidada. Se a evolução de fumos marrons for muito perceptível, recomenda-se adicionar mais 5 mL de HNO_3 e continuar a digestão até cessar a evolução dos fumos (em geral, 5 mL são suficientes para oxidar quase toda matéria orgânica contida em 500 mg de amostra). Retiram-se, então, os tubos do bloco, e adiciona-se 1,3 mL de solução $HClO_4$ 70% (m/m) em cada tubo. Recoloca-se o suporte com os tubos no bloco, eleva-se a temperatura para 210 °C e, após 10-30 min, observar-se-á a evolução de fumos brancos de $HClO_4$. H_2O. A digestão é considerada completa nesse estágio com a obtenção de uma solução incolor ou ligeiramente amarelada. Depois de resfriados à temperatura ambiente, completa-se o volume em cada tubo de digestão. No digerido podem ser determinados Al, B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P (ou ortofosfato), S (ou sulfato) e Zn. Se $HClO_4$ for usado rotineiramente, a capela deve ser construída ou revestida de material inorgânico.

A decomposição de amostras em sistemas abertos normalmente é efetuada em blocos digestores, conforme mostrado na Figura 9.1. Esses equipamentos são relativamente simples; os tubos, normalmente de vidro borossilicato, contendo a amostra e a mistura ácida são aquecidos em um bloco metálico ou de grafite revestido com Teflon®, que possui um termopar embutido para controle da temperatura. Em alguns casos, um suporte pode ser empregado para simplificar a colocação e a retirada dos tubos do bloco. Comercialmente, há blocos de grafite revestidos com

Teflon® com capacidade para até 72 tubos de 50 mL.[3] Há fabricantes que oferecem tubos de digestão de PTFE ou tubos descartáveis de outros materiais poliméricos.

Sistemas de condensação de vapores resfriados por circulação de ar ou água (clássicos condensadores de refluxo ou "dedos-frios") podem ser adaptados na parte superior dos tubos de modo a evitar a perda de reagentes ou analitos voláteis. Esses sistemas são utilizados com sucesso há muitos anos,[4] e há fabricantes que disponibilizam sistemas modernos com blocos revestidos com SiC, equipados com dispositivos para refluxo e tratamento de gases. É importante salientar que, apesar dos procedimentos empregando condensadores possibilitarem o uso de menores quantidades de reagentes, uma vez que os vapores são condensados e reaproveitados, esses dispositivos não alteram a eficiência de digestão, pois a temperatura de ebulição dos ácidos não é alterada.[5]

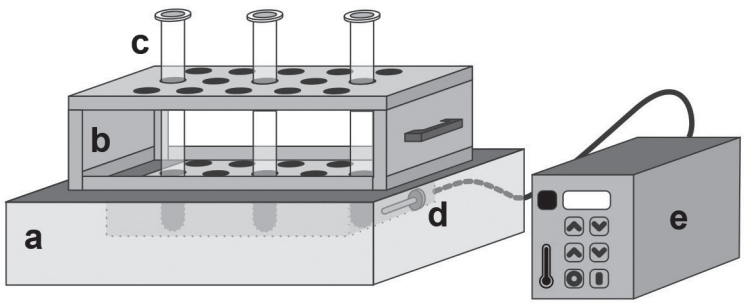

Figura 9.1. Ilustração de um bloco digestor; a) bloco de aquecimento; b) suporte; c) tubos de digestão; d) termopar; e) sistema de controle de aquecimento.

Nesses sistemas, a utilização de ácido fluorídrico não é recomendada quando frascos de vidro ou quartzo forem empregados porque o HF dissolve esses materiais. Outros cuidados também são necessários para garantir a segurança durante o processo de digestão. Recomenda-se que as amostras, após entrarem em contato com a solução ácida, permaneçam sob temperatura ambiente por algumas horas antes de serem introduzidas no bloco, evitando reações violentas durante os primeiros minutos de aquecimento. Ainda, deve-se proceder ao aquecimento inicial de maneira gradual, nunca ajustando para a temperatura máxima no início da digestão. A adição sequencial de reagentes durante a digestão deve ser feita sempre à temperatura ambiente, de modo a evitar reações violentas e projeções de líquidos. Por fim, o sistema de controle da temperatura do bloco digestor deve ser periodicamente aferido, pois o controle inadequado da temperatura pode causar acidentes.

A liberação de fumos marrons quando HNO_3 é usado pode ser considerado um indicativo de que a reação de oxidação da matéria orgânica está acontecendo. Porém, não necessariamente indica a completa decomposição da matriz, que deve ser avaliada pelo RCC ou DOC. Esses fumos marrons são característicos da formação de NO_2 durante o processo de decomposição. Como mostrado na equação geral abaixo (não balanceada), óxidos de nitrogênio, em especial NO e NO_2 podem ser gerados durante a decomposição da matéria orgânica com ácido nítrico. O NO reage com oxigênio do ar formando NO_2. É importante salientar que o NO_2 encontra-se em equilíbrio com seu dímero ($2\ NO_2 \rightleftharpoons N_2O_4$), o qual é incolor e tem sua formação favorecida em temperaturas mais baixas.

$$(CH_2)_n + HNO_{3(aq)} \rightarrow CO_{2(g)} + NO_{X(g)} + H_2O_{(l)} \quad (3)$$

Cabe ressaltar que frascos fechados também podem ser utilizados em blocos digestores como, por exemplo, os frascos usados para digestão com dicromato de potássio para a determinação da demanda química de oxigênio (DQO). Porém, a quantidade de amostra decomposta deve ser bem inferior àquela usada em frascos abertos, devido à pressão gerada pela solução ácida e pela liberação de gases durante a decomposição. Uma versão de sistemas fechados em blocos digestores foi proposta recentemente com resfriamento com ar da parte superior dos frascos, de modo a promover a condensação dos vapores e diminuir a pressão interna. Esse procedimento foi efetivo para a decomposição de plantas com ácido nítrico.[6]

9.1.1. Método de Kjeldahl

O método de Kjeldahl utiliza H_2SO_4 para a decomposição de matéria orgânica visando à determinação de nitrogênio orgânico. Esse método baseia-se na oxidação do carbono a CO_2 e redução do nitrogênio orgânico da amostra ao íon amônio e do ácido sulfúrico a SO_2, como pode ser observado na equação 4 (não balanceada).

$$(CHON) + H_2SO_4 \rightarrow NH_4^+{}_{(aq)} + CO_{2(g)} + SO_{2(g)} + H_2O_{(g)} \quad (4)$$

Sulfato de cobre (alternativamente sulfato de mercúrio ou selênio) é nor-

malmente adicionado como catalisador e sulfato de sódio ou potássio para elevar a temperatura de ebulição do H_2SO_4. À solução resultante, adiciona-se solução de hidróxido de sódio e a amônia formada é destilada em um frasco contendo um volume conhecido de um ácido padronizado. Essa decomposição pode ser conduzida em um frasco de Kjeldahl (Figura 9.2) ou em tubos com aquecimento em blocos digestores.

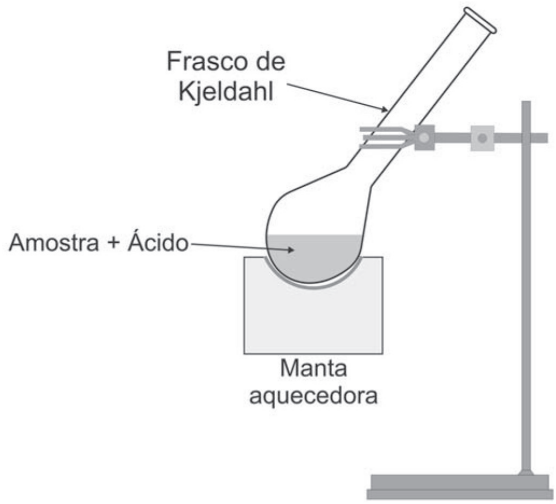

Figura 9.2. Ilustração de um frasco de Kjeldahl empregado para a decomposição de amostras orgânicas e posterior determinação de nitrogênio.

O frasco de Kjeldahl é feito de vidro Pyrex®, com base arredondada e gargalo longo e estreito. O formato desse gargalo visa à condensação de vapores, permitindo a fervura do ácido sob refluxo, minimizando as perdas por volatilização. A capacidade do frasco depende da quantidade de amostra empregada. Atualmente, muitos laboratórios preferem utilizar blocos digestores com tubos de digestão aferidos, com capacidade variando de 50 a 250 mL. É importante lembrar que o método de Kjeldahl é utilizado em grande parte para nitrogênio na forma de amina e amida. Assim, o método tem sido muito usado para a determinação indireta de proteínas em várias amostras biológicas e de alimentos, assim como de nitrogênio em plantas para avaliação do estado nutricional das mesmas. Cabe ressaltar que nitritos, nitratos e compostos heterocíclicos aromáticos (*e.g.* piridina, pirimidina, tiazol, imidazol e pirazol) não são convertidos quantitativamente à amônia durante a digestão.

Em geral, o método de Kjeldahl pode ser empregado utilizando-se diferentes procedimentos para a decomposição e cabem os seguintes comentários:

a) Como o potássio é comumente determinado em materiais biológicos, é preferível utilizar Li_2SO_4 ao invés de K_2SO_4 para elevar a temperatura de ebulição do ácido. Com referência ao catalisador, o uso de selênio é mais recomendável porque a digestão é mais rápida do que com $CuSO_4$. A eficiência é maior quando se adiciona H_2O_2. Assim, prepara-se uma mistura digestora contendo o ácido, um sal de sulfato, um catalisador e peróxido de hidrogênio visando ao aumento da taxa de decomposição da matéria orgânica. Cabe lembrar que, apesar de muitos catalisadores serem apropriados para aumentar a taxa de decomposição, o óxido ou sulfato de mercúrio(II) não são recomendados face à elevada toxicidade. O selênio é particularmente recomendado quando o íon amônio for determinado por espectrofotometria de absorção molecular pelo método do azul de indofenol;
b) O nitrogênio constituinte é convertido exclusivamente ao íon NH_4^+ sob essas condições. Como essa é uma espécie iônica, o risco de perdas por volatilização é mínimo;
c) Logo que a reação se completa (normalmente quando uma solução límpida é obtida), a mistura é resfriada e, cuidadosamente, alcalinizada com solução de NaOH. A solução é destilada imediatamente em um sistema fechado e a amônia volatilizada é absorvida em um volume conhecido de solução ácida padronizada, a qual pode ser, então, titulada com um álcali padrão. Nessa etapa é preciso alguma habilidade prática para certificar-se de que não há perdas de NH_3 para a atmosfera. Versões automatizadas do método de Kjeldahl facilitam a execução desse procedimento.

O método de Kjeldahl também pode ser aplicado para a determinação posterior de nitrogênio em outras formas diferentes de amina e amida. O nitrogênio em um grupo nitro ou nitroso deve, primeiramente, ser reduzido a um grupo amina por tratamento com agente redutor A redução de nitrato a amônio pode ser feita, também, com ácido salicílico combinado com o ácido sulfúrico.

Um procedimento para a decomposição em blocos digestores pode ser empregado com sucesso com a seguinte solução digestora: misturam-se 350 mL de solução H_2O_2 30% (m/m) com 14 g de $Li_2SO_4.H_2O$ e 0,42 g de Se (pó) em um recipiente de 1000 mL. Resfriando-se em banho de gelo; acrescentam-se, cuidadosamente, 420 mL de H_2SO_4 concentrado à mistura. Essa mistura é conservada em refri-

gerador. O procedimento para a decomposição de materiais biológicos consiste em pesar 200 mg de amostra em tubo de digestão de 50 a 100 mL seco, acrescentam-se 6 mL da solução digestora fria; coloca-se o suporte com os tubos em bloco digestor frio e inicia-se o aquecimento ajustando-se a temperatura para 100 °C, seguido de um aumento gradativo em incrementos de 50 °C até 350 °C. As amostras devem ser observadas periodicamente e deve-se remover o suporte com os tubos, cuidadosamente, se for detectado o início de uma reação mais rápida, recolocando-o no bloco quando a reação cessar. Normalmente, as amostras tornam-se bem escuras em 15 a 20 min. Com o decorrer da digestão, as amostras tornam-se marrons, amarelas até ficarem incolores. Caso sobre algum resíduo na parede do tubo deve-se remover o mesmo do bloco e, cuidadosamente, incliná-lo para que a solução digestora entre em contato com o resíduo, e retomar o aquecimento no bloco. Quando a temperatura atingir 350 °C, e as amostras estiverem claras e incolores, continua-se a digestão por mais 30 min. Cessa-se, então, o aquecimento, remove-se o suporte com as amostras do bloco, deixa-se esfriar por pelo menos 15 min, adiciona-se um pouco de água, agita-se cuidadosamente, aguarda-se novamente até resfriamento e completa-se o volume no próprio tubo. Utilizam-se tubos aferidos a 50, 75 ou 100 mL.

9.2. DECOMPOSIÇÃO EM SISTEMAS FECHADOS

Apesar da decomposição em sistemas abertos ser bastante utilizada em rotina, alguns elementos são perdidos na forma de espécies voláteis e não podem ser determinados nesses digeridos. Além disso, nos sistemas abertos a solução ácida é perdida em grande parte por volatilização, o que faz com que maiores quantidades de reagentes sejam utilizadas e os riscos de contaminação aumentem (a perda de reagentes é minimizada em sistemas empregando condensadores de refluxo ou "dedos-frios"). Assim, há um interesse crescente na utilização de sistemas fechados, especialmente para a análise de traços.

Decomposições de diversos materiais podem ser feitas sob pressão atmosférica, mas isso restringe a temperatura de decomposição à temperatura de ebulição do solvente ou ácido empregado. Como a taxa de reação é, fundamentalmente, relacionada à temperatura, essa condição impõe um limite sobre o tempo necessário para a decomposição da amostra. A reação pode se tornar mais rápida fechan-

do-se hermeticamente a amostra e o ácido em um sistema resistente à pressão e ao aquecimento. Por outro lado, esse sistema introduz um fator de risco em seu manuseio, devido ao potencial de explosão, particularmente quando reagentes fortemente oxidantes são utilizados com tecidos botânicos, biológicos ou amostras combustíveis. Frascos abertos apresentam, naturalmente, problemas referentes aos gases tóxicos, porém não há aumento de pressão e, dessa forma, reduz-se a probabilidade de explosão. Apesar desses fatores, o emprego de sistemas fechados é, hoje, amplamente disseminado para a decomposição de uma grande diversidade de amostras, visando à posterior determinação elementar por diversas técnicas.

Os principais sistemas utilizados para a decomposição por via úmida em sistemas fechados com aquecimento convencional são abordados na sequência deste texto. Sistemas aquecidos por radiação micro-ondas são discutidos no Capítulo 10. A comparação entre sistemas abertos e fechados é discutida com maiores detalhes ao final deste capítulo.

9.2.1. Método de Carius

Um dos primeiros procedimentos para a decomposição por via úmida em sistemas fechados foi proposto em 1860 por Georg Ludwig Carius. A estratégia consiste em colocar a amostra em um tubo de vidro junto com HNO_3 (67 a 97% (m/m), dependendo da amostra) e selar o tubo em uma chama, formando uma espécie de "ampola". O frasco selado é, então, aquecido a 250–300 °C por algumas horas. A amostra é completamente decomposta, pois o HNO_3 é muito eficiente nessas condições, porque a pressão e a temperatura são mais altas. O tubo de vidro deve ser recoberto por uma malha ou tubo protetor de aço, devido ao risco de explosão pela pressão exercida pelo próprio HNO_3 e, também, pelos gases gerados durante a decomposição (*e.g.* NO_x e CO_2). Assim, pode-se generalizar que a pressão dentro de um sistema fechado, como o tubo de Carius, consiste, basicamente, do somatório das pressões parciais dessas espécies (equação 5).

$$\rho\text{total} = \rho HNO_3 + \rho CO_2 + \rho NO_x \qquad (5)$$

Além dessas espécies, outros produtos gasosos (*e.g.* SO_2 e SO_3) podem ser formados, dependendo da composição da amostra, e contribuir, também, para o

aumento da pressão no interior do frasco. Contudo, pode-se inferir que a pressão parcial de HNO_3 estará mais relacionada com a temperatura usada para a decomposição e que as pressões parciais dos produtos gasosos oriundos da reação da amostra com o HNO_3 (*e.g.* CO_2 e NO_x) estarão relacionadas diretamente com a composição e com a massa da amostra. Cabe ressaltar que, após o resfriamento, grande parte desses produtos gasosos são absorvidos, mas cuidado deve ser tomado na abertura do tubo para evitar acidentes.

O tempo de reação e a quantidade de ácido nítrico dependem da natureza da amostra: para substâncias que se decompõem facilmente, recomenda-se 1 h de aquecimento e 2 a 3 mL de solução 65% (m/m) de HNO_3 por grama de amostra, ao passo que tecidos de peixe, gorduras e corantes devem ser aquecidos com 5 a 7 mL do ácido por grama de amostra, durante 3 a 5 h. Em versões mais recentes do método de Carius, alguns cuidados têm sido empregados como, por exemplo, a utilização de gelo seco para contrabalançar a pressão interna do frasco selado e bicarbonato de sódio para neutralizar vapores liberados durante a decomposição ou em caso de rompimento do frasco (Figura 9.3).

Figura 9.3. Ilustração de um sistema de decomposição empregando o método de Carius: a) frasco de vidro selado (tubo de Carius); b) $NaHCO_3$; c) gelo seco. Reproduzida com autorização da *Royal Society of Chemistry.*[7]

Após o procedimento de decomposição ter sido finalizado, o tubo é resfriado e, então, *cuidadosamente* aberto (ainda pode estar sob pressão) com o consequente recolhimento da solução. Deve-se ter bastante cuidado nesse ponto, não só pelo perigo de acidentes quando o tubo for aberto como, também, pela perda das espécies voláteis (*e.g.* halogênios) no curto intervalo de tempo em que o conteúdo for transferido. Para contornar esse problema, recorre-se ao uso de um aditivo (nitrato de prata ou prata metálica) que é selado no tubo junto com a amostra e o HNO_3. O íon prata retém os halogênios como sais insolúveis de haletos de prata. No caso do enxofre, a adição de cloreto de bário ao ácido, antes de selar o tubo, evita as perdas desse elemen-

to pela formação de sulfato de bário. O flúor não pode ser determinado pelo método de Carius, porque o HF produzido pode reagir com o vidro do tubo. Cabe ressaltar que, apesar da elevada eficiência desse sistema de decomposição, o tubo de Carius não é de uso frequente em laboratórios de análises de rotina, sendo aplicado em casos específicos.[8,9] Alguns compostos orgânicos não são completamente oxidados, mesmo após aquecimento prolongado. Nessa categoria são incluídos: fluorcloropropano, bifenilas cloradas, hexaclorobenzeno, tetrametilsilano e organoboranos. Esse método também é susceptível a acidentes e não permite o processamento de um grande número de amostras, limitando seu uso. Assim, diferentes sistemas de decomposição foram desenvolvidos de modo a contornar tais desvantagens.

9.2.2. Decomposições em frascos pressurizados

O ácido nítrico não é um agente oxidante suficientemente forte para decompor completamente amostras orgânicas em sistemas abertos. Dependendo da natureza da amostra (Tabela 9.2), de 2 a 50% do teor de carbono originalmente presente na amostra pode permanecer como material não decomposto.[10] Se a oxidação do carbono for parcial, a etapa de determinação pode estar sujeita à interferências (*e.g.* determinações por ICP-MS).

Não obstante, uma vantagem do ácido nítrico é seu manuseio pois, contrariamente ao ácido perclórico, o risco de explosão pelo contato com substâncias orgânicas é pequeno. Além disso, pode-se obter, facilmente, um ácido de alta pureza por destilação abaixo de sua temperatura de ebulição.[11] Como a reatividade do ácido nítrico é menor quando comparada ao ácido perclórico, o ácido nítrico pode ser usado em sistemas fechados de decomposição e as perdas de elementos por volatilização podem ser evitadas.

Um aspecto interessante sobre o ácido nítrico é que seu potencial de oxidação é diretamente proporcional à temperatura e, assim, a eficiência de decomposição é aumentada em frascos fechados. Enquanto em sistemas abertos a temperatura de decomposição é a do seu azeótropo com a água (*ca.* 121 °C), em sistemas fechados pode-se atingir 300 °C.[12]

Para explorar o máximo potencial de oxidação do ácido nítrico, sistemas de decomposição fechados que suportam a pressão gerada durante o aquecimento têm sido desenvolvidos, permitindo aplicações com temperaturas elevadas. Dependen-

Tabela 9.2. Teor de carbono residual (RCC) em digeridos com ácido nítrico em frascos abertos obtidos com 200 mg de amostra, 5 mL de HNO_3 e aquecimento a 121 °C por 3 h. Adaptada com autorização da Springer-Verlag Berlin Heidelberg.[10]

Material	RCC, %	Resíduos orgânicos não dissolvidos
Amido	2 – 11	Não
Celulose	2 - 12	Não
Cana de açúcar	2 - 10	Não
Farinha de trigo	4 - 6	Não
Alga marrom	14 - 16	Não
Espinafre	16 - 17	Não
Acículas de pinus	10 - 21	Não
Folhas de plátano	17 - 23	Não
Leite em pó desnatado	10 - 12	Não
Leite em pó integral	26 - 29	Sim
Alimento de peixe	26 - 39	Sim
Carne magra	25 - 30	Sim
Fígado bovino	24 - 32	Sim
Sangue de porco	9 - 22	Não
Sangue humano	25 - 29	Não
Óleo de semente de girassol	43 – 46	Sim

do do projeto do sistema de aquecimento, e tomando-se as necessárias precauções, existem procedimentos em que os riscos de explosão são controláveis ou mesmo desprezíveis. Os sistemas fechados que são usados correntemente para decomposição de amostras orgânicas com aquecimento baseados nos processos de condução e convecção são descritos a seguir, sendo divididos em sistemas que operam a 180 e 300 °C (pressões máximas de trabalho de 20 e 130 bar, respectivamente).

9.2.2.1. Decomposições com ácido nítrico a 180 °C

Para a decomposição de amostras em sistema fechado, em frascos de reação apropriados, adiciona-se ácido nítrico concentrado (65-69% (m/m)) e utiliza-se um programa de aquecimento do frasco sob pressão. As principais vantagens do emprego de um sistema fechado, quando comparado com um sistema aberto, são as seguintes (maiores informações na Seção 9.3):

a. Maior eficiência de decomposição decorrente das temperaturas mais elevadas;
b. Minimização das perdas de diversos elementos por volatilização;
c. Reações mais rápidas devido às temperaturas acima da temperatura de ebulição do reagente;

d. Menores quantidades dos reagentes são requeridas, diminuindo-se os valores dos brancos analíticos;
e. Minimização dos riscos de contaminação por fontes externas.

As temperaturas utilizadas para a decomposição estão associadas ao material do frasco de reação: o PTFE, dependendo da sua qualidade, permite empregar temperaturas tipicamente entre 160 - 200 ºC.[13,14] Para temperaturas mais altas esse polímero pode perder a resistência física e pode apresentar deformações, por amolecimento, mas já existem modificações na composição do mesmo que permitem atingir temperaturas de até 260 °C. Diferentes sistemas de decomposição fechados são descritos na literatura, muitos dos quais propostos para a decomposição de amostras geológicas com ácido fluorídrico.[15-18]

Até 1985, a maioria dos sistemas utilizados baseava-se nos modelos descritos por Bernas[17] e Kotz *et al.*.[13] O sistema de decomposição fechado foi denominado de "bomba de decomposição" e consiste em um recipiente de PTFE contido em um cilindro de aço. O recipiente é fechado com uma tampa de PTFE que é pressionada por uma mola e, então, fechada. Quando a pressão ultrapassa o valor máximo de segurança, a tampa se abre pela pressão exercida dentro do frasco deixando que os gases gerados escapem, prevenindo uma pressão excessiva e diminuindo o risco de explosão. A bomba é posicionada em um bloco de metal aquecido resistivamente ou em uma estufa termostatizada.[19] Alguns frascos usam discos ou membranas de ruptura, ao invés do dispositivo de segurança do tipo mola; a tampa do frasco de pressão pode servir para a mesma função.[20] A Figura 9.4 mostra as principais partes de um sistema comercial para decomposição sob pressão.

É oportuno lembrar, que o uso de frasco de digestão de PTFE pode restringir alguns casos de determinações de baixas concentrações de elementos.[14] Em altas pressões e temperaturas, alguns elementos difundem-se no PTFE, resultando em efeito de memória e erros sistemáticos.[21] Esses efeitos, entretanto, dependem sobremaneira da qualidade do PTFE utilizado. Entretanto, para decompor amostras que contêm uma grande quantidade de minerais (*e.g.* silicatos), faz-se necessário o uso de ácido fluorídrico para permitir a decomposição de resíduos de sílica que não ocorre pela ação do ácido nítrico e, assim, frascos de PTFE devem ser empregados.

O ácido perclórico não deve ser usado em sistemas fechados por razões de segurança: reações violentas podem causar a explosão dos frascos, porque os

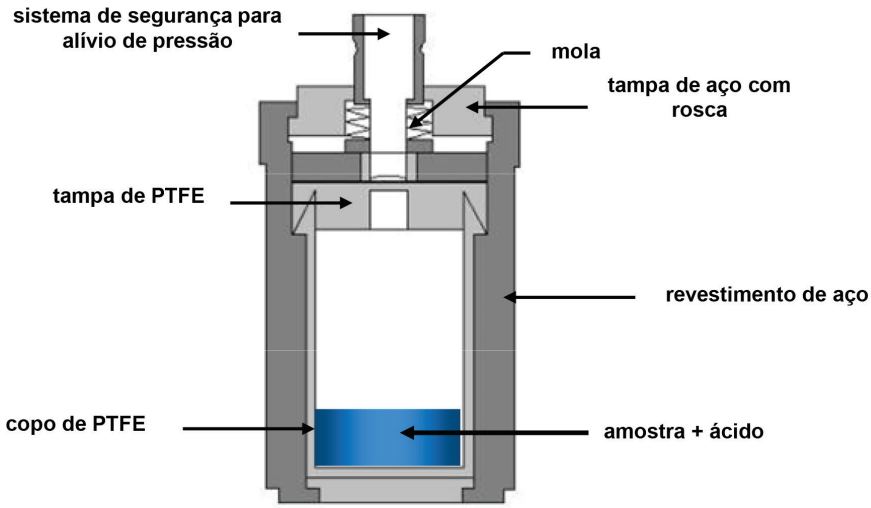

Figura 9.4. Sistema de decomposição com aquecimento convencional tipo "bomba de decomposição" (adaptado com autorização de Berghof Products + Instruments GmbH, www.berghof.com).

sistemas de segurança dos mesmos podem não responder rapidamente ao aumento súbito de pressão. Cuidados especiais devem ser tomados para o uso de misturas de ácidos sulfúrico e nítrico para a decomposição de gorduras facilmente oxidáveis em sistemas fechados.

A avaliação dos métodos empregados na decomposição com ácidos sob pressão para a determinação posterior de baixas concentrações de elementos, deve considerar uma série de parâmetros para a obtenção de resultados adequados. Assim, quando o ácido nítrico é usado isoladamente e sob condições de segurança, parâmetros como a massa e o tipo de amostra, o volume de ácido, o volume do recipiente, a temperatura reacional e a duração do aquecimento devem ser considerados, conforme descrição a seguir baseada nos trabalhos de Jackwerth e Würfels.[10,22,23]

Temperatura de decomposição

Em frascos de PTFE, temperaturas entre 170 e 180 °C permitem condições geralmente adequadas de oxidação dos constituintes da matriz em amostras biológicas.[10] Como comentado, outros polímeros fluorados estão disponíveis permitindo a utilização de temperaturas mais elevadas para decomposição (normalmente até 260 °C).

Tempo de reação

Tempos de reação de cerca de 3 h são considerados adequados para diversos tipos de amostras biológicas.[10] Entretanto, o tempo de digestão depende do tipo e concentração dos reagentes, massa de amostra e condições de temperatura e pressão do sistema.[10] O resfriamento dos sistemas é normalmente lento e, muitas vezes, sistemas de circulação de água podem ser utilizados para acelerar o arrefecimento, reduzindo o tempo total do procedimento.

Volume de ácido nítrico

Volumes de HNO_3 65% (m/m) entre 0,4 e 2,0 mL são indicados para a decomposição de até 200 mg de amostras orgânicas.[13,14,24] É possível afirmar que um volume de 2 mL de ácido nítrico será suficiente para oxidar uma quantidade de amostra biológica que corresponda a 100 mg de carbono puro, independentemente do tipo de substância orgânica, quando a decomposição for realizada entre 170-180 ºC durante, pelo menos, 3 h.[10] Volumes menores do ácido podem ser usados para substâncias que apresentem menores teores de gordura.[10] Como o ácido nítrico é encontrado com alto grau de pureza ou, alternativamente, é de fácil purificação,[11] a razão 2 mL de HNO_3/massa de amostra que corresponda a 100 mg de C pode ser considerada como um volume razoavelmente pequeno para os sistemas fechados aquecidos convencionalmente. Entretanto, devem-se observar as condições recomendadas pelos fabricantes de sistemas de decomposição que, normalmente, apresentam recomendações sobre massa de amostra, tempo, temperatura e volume e tipo de ácido para uma gama de matrizes.

Massa de amostra

A massa da amostra é determinada pela máxima pressão suportada pelo frasco de decomposição. O exemplo seguinte se refere ao sistema de decomposição que emprega uma pressão de trabalho de até 20 bar e utiliza um frasco de PTFE de 35 mL de volume interno. Nessas condições, as amostras, em quantidades que correspondam a 100 mg de carbono puro, podem ser decompostas.[23] Para muitos tipos de material biológico, a pressão atingida durante a fase final do processo de decomposição estará próxima de 20 bar. Essa pressão é gerada por gases que se formam durante o processo de decomposição (CO_2 proveniente da oxidação do carbono contido na amostra e NO/NO_2 face à reação com ácido nítrico) e pelas pressões de

vapor de água e do ácido nítrico. Assim, uma massa apropriada de amostra orgânica é facilmente calculada com base em seu teor de carbono. Os conteúdos de carbono de algumas substâncias liofilizadas são apresentados na Tabela 9.3. Se forem empregadas substâncias frescas (*in natura*), o alto conteúdo de água permite aumentar as massas das amostras. Assim, podem ser utilizados, aproximadamente, 200 mg de tecido liofilizado (*ca.* 50% de carbono), 200 a 300 mg de uma substância vegetal liofilizada (*ca.* 30-50% de carbono) e somente 120 mg de gordura (*ca.* 78% de carbono).[23]

Além da temperatura, do tempo de reação e da quantidade de ácido, outro fator importante para que ocorra uma completa oxidação das substâncias orgânicas da amostra, é a relação entre a massa de amostra e o volume do recipiente. Se, por exemplo, em um recipiente de 35 mL a massa de amostra e o volume de ácido nítrico forem diminuídos proporcionalmente, a oxidação do carbono será menos eficiente para o caso de amostras contendo menos que 50 mg de carbono. Isso resultará em um aumento dos produtos de decomposição orgânica em solução, mesmo que a proporção massa de amostra/volume de ácido permaneça inalterada. Alguns autores relataram que resultados ruins são obtidos quando a concentração de NO_2 diminui na fase líquida, o que corresponde a uma diminuição de pressão no interior dos frascos, face às baixas quantidades usadas de amostra e de ácido.[23] Assim, o NO_2 que é produzido quando o ácido nítrico é reduzido, está diretamente associado com a destruição das amostras orgânicas. Para uma aplicação prática de decomposição sob pressão isso significa dizer que massas de amostras menores que 1,5 mg (em C)/mL do volume do recipiente não são recomendadas.[23] Não há um limite superior, desde que o sistema de decomposição usado responda às pressões geradas durante o processo. Entretanto, pressões mais altas no frasco não resultam em melhores resultados de oxidação: para digestões com relação C/volume próximas de 1,5 mg mL^{-1} do volume do frasco, a eficiência de decomposição (RCC) não é afetada pela pressão e, portanto, é independente da massa da amostra. Caso os sistemas de decomposição não estejam apropriadamente fechados, haverá perdas de NO_2 e a oxidação do carbono será prejudicada. Esse raciocínio somente é válido para decomposições em sistemas com aquecimento convencional. Quando a reação é assistida por radiação micro-ondas, outras reações devem ser consideradas para as espécies gasosas de NO e NO_2 formadas durante a oxidação da matéria orgânica (informações adicionais podem ser obtidas no Capítulo 10, na Seção sobre a decomposição com ácido diluídos).

Tabela 9.3. Teores de carbono em amostras biológicas liofilizadas. Adaptada com autorização da Springer-Verlag Berlin Heidelberg.[23]

Matriz	Amostra	% Carbono
Tecido Vegetal	Alga marrom	35
	Farinha de trigo	45
	Espinafre	38
	Folha de álamo	44
	Folha de faia	48
	Folha de plátano	48
	Gramínea	39
	Trevo	36
	Acículas de pinus	51
	Acículas de abeto	48
	Raíz de abeto	49
	Casca de abeto	36
	Polpa de pêssego	40
Lipídeos	Manteiga, óleos vegetais, gorduras vegetais, sebo	74-78
Tecido Animal	Leite em pó desnatado	42
	Leite em pó	52
	Carne magra	50
	Fígado bovino	51
	Peixe	52
	Sangue humano	52
	Sangue de porco	52
	Tecido de ostra	46
	Rim de porco	49
	Músculo (tecido)	41
	Ovo de galinha	50
Glicídeos	Glicose	37
	Açúcar de cana (sacarose)	42
	Lactose	42
	Celulose	43
	Amido	41

Materiais não decompostos

Nestas condições (180 °C, 3 h, 2 mL de 65% (m/m) de HNO_3/100 mg C, razão massa de amostra/volume do frasco ≤ 1,5 mg mL^{-1} C), diversas substâncias orgânicas podem ser pelo menos parcialmente oxidadas e os digeridos finais apresentarão baixos valores de RCC.[23] As amostras contendo silicato (*e.g.* gramíneas e mexilhões) somente podem ser completamente dissolvidas com uma mistura de ácidos nítrico e fluorídrico ou usando alguma estratégia especial de digestão com

combinação de reagentes e controle de pH.[25] Os resíduos insolúveis que, frequentemente, permanecem após o processo de decomposição (*e.g.* CaF_2 e fluorossilicatos), podem ser solubilizados se a mistura for levada à secura após o processo de decomposição sob pressão. Quando se fizer necessário, pequenas quantidades de HNO_3 podem ser adicionadas. Os fluoretos e fluorossilicatos insolúveis são, então, convertidos em compostos solúveis.[23]

Dependendo do problema analítico, os silicatos que permanecem em solução poderão ser tolerados, dispensando a adição de ácido fluorídrico. Isso é importante para decomposições com ácido nítrico em frascos de quartzo e de vidro borossilicato, face à incompatibilidade desses materiais com ácido fluorídrico.

As matrizes orgânicas ou seus produtos, quando reagem com ácido nítrico sob alta pressão, são completamente oxidadas na maioria dos casos. As substâncias que contêm proteínas e gorduras, entretanto, produzem resíduos orgânicos,[26] os quais não são digeridos pelo ácido nítrico a 180 °C. Carboidratos puros (*e.g.* açúcar e celulose) são completamente decompostos pelo ácido nítrico a 180 °C[10] e, nesses casos, baixas concentrações de elementos podem ser determinadas sem problemas por várias técnicas analíticas.

Resumo das condições de decomposição em frascos de PTFE a 180°C

Apesar de algumas amostras não serem completamente decompostas e alguns produtos de decomposição permanecerem em solução, existem várias situações em que decomposições a 180 ºC em sistemas fechados fornecem bons resultados. A Tabela 9.4 resume as melhores condições para a decomposição com ácido nítrico em recipientes de PTFE.[23] As condições mostradas nessa tabela asseguram que os resíduos orgânicos que permanecem em solução podem ser quase totalmente eliminados, quando amostras biológicas são decompostas. Além disso, a decomposição de carboidratos e gorduras que não contêm ácidos linoléico ou linolênico não deixará resíduos de compostos orgânicos. Esses ácidos na temperatura de 180 °C são convertidos no ácido ciclopropano-1,2-dicarboxílico, que nessa temperatura não é atacado pelo HNO_3.[26] A digestão de certas amostras contendo proteínas e/ou aminoácidos com HNO_3 pode levar à formação de ácidos nitrobenzóicos, que são estáveis mesmo a 180 °C, o que pode causar interferências na etapa de determinação dos elementos (*e.g.* em DPASV).[27]

Tabela 9.4. Melhores condições para a decomposição de amostras biológicas com aquecimento convencional e ácido nítrico em recipientes de PTFE.[23]

Parâmetro	Condições para decomposição
Temperatura	170 - 180 °C
Massa da amostra em frasco de 35 mL	Correspondente a 100 mg C
Pressão final	20 bar
Tempo de decomposição	3 h (mais o tempo para atingir a temperatura de decomposição)
Ácido	2 mL de HNO_3

9.2.2.2. Decomposições com HNO_3 a 300 °C

Para oxidar completamente amostras biológicas, recomenda-se a decomposição com ácido nítrico a 300 °C.[27] Nessa temperatura, após 2 h de decomposição, as soluções resultantes praticamente não contêm carbono (*ca.* 99,9% do conteúdo original em carbono da amostra são oxidados), como mostrado na Figura 9.5. Como os frascos de PTFE se deterioram quando são empregadas temperaturas acima de 200 °C, utilizam-se frascos de quartzo. Existe um equipamento especial para decomposição sob altas temperaturas, desenvolvido para a prática analítica,[21] denominado *High Pressure Asher*® ou HPA.

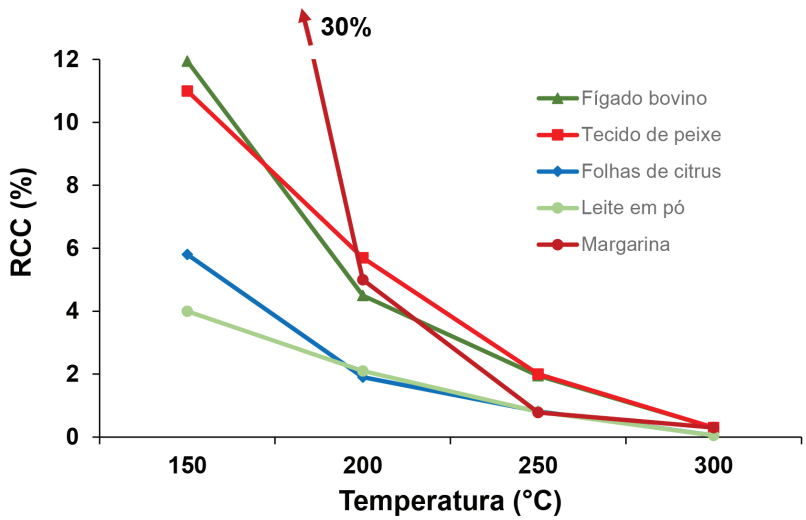

Figura 9.5. Influência da temperatura no teor de carbono residual dos digeridos de diferentes amostras biológicas empregando o sistema de digestão HPA. Adaptado de dados não publicados de Peter Fecher, Alemanha, com autorização.

No sistema HPA comercialmente disponível,[12] a soma das pressões de vapor do ácido e dos gases resultantes da reação com a matéria orgânica a 300 °C, dentro do frasco de quartzo, é equilibrada pela pressurização externa, utilizando-se N_2. O frasco de digestão de quartzo é fechado por uma tampa, também de quartzo, sobre um anel de vedação de PTFE. O frasco pode ser aquecido a temperaturas de até 320 °C em uma autoclave sob uma pressão externa de até 130 bar (N_2) com segurança. Um corte esquemático do modelo HPA-S, fabricado pela empresa Anton Paar, é mostrado na Figura 9.6. É possível, nessas condições, obter soluções livres de carbono (teor de carbono residual < 0,1%); os analitos estarão na forma iônica inorgânica e várias técnicas analíticas podem ser empregadas para as determinações subsequentes. Algumas aplicações de métodos analíticos, que eram limitadas pela presença do resíduo orgânico que permanecia em solução quando as decomposições eram feitas com ácido nítrico a 180 °C, tais como a voltametria de redissolução anódica, e todos os métodos empregando geração de hidretos, podem ser utilizadas nesse caso.

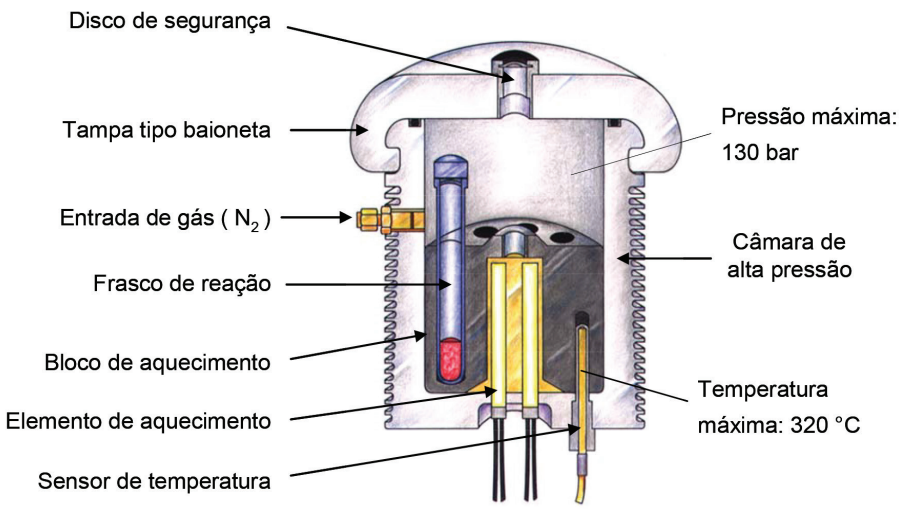

Figura 9.6. Corte esquemático do sistema de decomposição HPA-S, fabricado pela Anton Paar GmbH (www.anton-paar.com). Reproduzida com autorização.

Quando se emprega o HPA a massa das amostras é totalmente determinada pela temperatura do procedimento de decomposição. Com 2 mL de ácido nítrico (65% (m/m)) em um frasco de quartzo de 30 mL de volume interno e uma temperatura na autoclave de 320 °C, que corresponde a cerca de 300 °C no interior do frasco, obtém-se oxidação completa das amostras com massa equivalente a 100

mg de carbono puro.[23] Em princípio, a massa da amostra é limitada pela pressão de vapor do ácido, que pode atingir *ca.* 70 bar nessa temperatura. Se o frasco de decomposição está sujeito a uma pressão externa de 100 bar, a pressão resultante devida aos gases CO_2 e NO_2 não deverá exceder 30 bar para que não ocorra ruptura do sistema de vedação do frasco. Não ocorrerá nenhuma ruptura se a massa da amostra for limitada pela quantidade correspondente a 100 mg C, independentemente do tipo de material biológico utilizado.

Cabe ressaltar que a pressão de vapor de um ácido decresce exponencialmente com a diminuição da temperatura, como mostrado na Tabela 9.5.[28] Assim, torna-se evidente que, quando se utiliza o HPA a 180 °C, podem ser utilizadas massas maiores de amostra do que a 300 °C. Se a qualidade dos resultados analíticos não for prejudicada quando as digestões forem feitas a 180 °C, essa situação de menor temperatura tornar-se-á de particular importância quando as amostras analisadas não forem homogêneas ou quando as amostras não puderem ser divididas. Isso somente é recomendável, se o método de determinação não sofrer interferência pelos compostos orgânicos que, eventualmente, possam permanecer em solução. Como exemplo, uma massa de amostra equivalente a 350 mg de carbono pode ser digerida a 180 °C em um frasco de quartzo de 30 mL. Se o frasco for de 70 mL, a massa de amostra correspondente ao teor de carbono, pode chegar a 800 mg.[23] Isso corresponde a 1,6 g de tecido animal liofilizado ou 4 g de tecido fresco. Por outro

Tabela 9.5. Pressões de vapor desenvolvidas por 10 mL de alguns ácidos em frasco de 23 mL, e pressão de saturação da água (dados compilados por Barnes, 1994).[28]

HNO_3 91%		HCl 36 %		HCl 22,9 %		Água régia		H_2O	
T (ºC)	P (bar)	T (ºC)	P (bar)	T (ºC)	P (bar)	T (ºC)	P (bar)	T (ºC)	P(bar)
						106	21	125	2,3
133	12			132	4,8	155	48	150	4,7
165	25	178	48	159	6,5	162	52	175	8,8
192	43			191	18	202	94	200	15,3
219	77	223	97	220	35	221	114	225	25
256	107			250	63	236	133	250	39
285	163	255	146	285	112	258	170	275	59
				315	153			300	85
								325	119

lado, se a amostra for digerida a 300 °C, mesmo em um frasco de 30 mL, o limite máximo de massa de amostra recomendado em termos de carbono será de 230 mg.[23]

Atualmente, estão disponíveis comercialmente para o sistema HPA somente frascos de quartzo de 15, 50 e 90 mL, utilizados em suportes para digestão simultânea de 14, 7 e 5 frascos, respectivamente. Para digestões com HF, frascos de carbono vítreo de 20 mL podem ser empregados em suporte para 6 frascos. Assim, diferentes massas de amostra, variando de 10 a 1500 mg, podem ser decompostas. Na Tabela 9.6 são mostradas condições recomendadas para o preparo de amostras de alimentos, materiais biológicos, polímeros, solos e sedimentos com esse sistema.

Tabela 9.6. Condições para a decomposição de amostras com emprego de HPA.

Amostra	Massa (mg)	Frasco (mL)	Temperatura máxima (ºC)	Tempo total (h)
Acículas de pinus	400	50	230	2
Cereais	1200	90	260	1,5
Chocolate	400	50	290	2
Farinha de trigo	1200	90	240	2
Fígado bovino	400	50	260	1,5
Folhas	1000	90	260	1,5
Lecitina de soja	900	90	260	1,5
Leite em pó	200	15	240	2
Madeira	500	50	250	2
Polipropileno	200	50	320	3
Policloreto de vinila (PVC)	300	50	300	2,5
Sedimento de rio*	300	50	220	2
Solo*	400	50	280	3
Tabaco	1000	90	260	1,5

HPA - High Pressure Asher® é marca registrada da Anton Paar (Áustria); * extração

Em síntese, este método de decomposição com HNO_3 a 300 ºC apresenta as seguintes vantagens:

- Todos os materiais biológicos e produtos alimentícios podem ser completamente decompostos sem o uso de ácido perclórico, eliminando riscos inerentes ao se trabalhar com esse reagente;

- Todos os métodos de determinação que requerem soluções com baixos teores de carbono residual podem ser empregados, pois as interferências provocadas pelos resíduos orgânicos são eliminadas na maioria dos casos, ou seja, o carbono contido no material é completamente oxidado à CO_2. Devido à eliminação dessa fonte de interferência e dos sinais de fundo, evitam-se os riscos de erros sistemáticos, melhorando a exatidão e a precisão de métodos analíticos;
- Empregando-se um sistema fechado evitam-se as perdas de analitos por volatilização e os riscos de contaminação. As perdas de elementos por difusão para o interior das paredes dos frascos, muitas vezes observadas quando são utilizados frascos de PTFE, não ocorrem tão pronunciadamente em frascos de quartzo. Nos casos em que o uso de HF for necessário, frascos de carbono vítreo estão disponíveis para esse sistema;
- A decomposição acima de 300 °C com ácido nítrico permite a digestão completa da maioria das amostras orgânicas, incluindo plantas, alimentos, petróleo, combustíveis, carvão, materiais de importância tecnológica, tais como polímeros não fluorados e óleos minerais.

Apesar da elevada eficiência do HPA para diversas aplicações, em alguns casos, mesmo o uso de condições extremas de decomposição, como temperaturas de até 320 °C, não são suficientes para a destruição da matéria orgânica. Isso pode ser exemplificado para o caso de grafite e, também, de fármacos tricíclicos que podem formar estruturas estáveis mesmo nessas condições.[29] Na Figura 9.7 são mostrados os aspectos dos digeridos de três fármacos tricíclicos submetidos a diferentes programas de aquecimento no HPA: a) a decomposição foi efetiva a 280 °C por 2 h apenas para o cloridrato de imipramina (RCC = 0,6%), enquanto para a carbamazepina e o cloridrato de amitriptilina formou-se um resíduo; b) aumentando-se a temperatura para 320 °C por 2 h, ocorreu a decomposição parcial do cloridrato de amitriptilina (RCC = 11,2%), não se observando nenhum efeito significativo para a carbamazepina; c) aumentando-se o tempo de decomposição para 3 h e diminuindo-se pela metade a porção amostrada de ambas as substâncias, todas as amostras foram decompostas (RCC < 1%).[29]

A caracterização do precipitado da digestão de carbamazepina foi feita por ressonância magnética nuclear.[30] O espectro de ^1H mostrou que, após o aqueci-

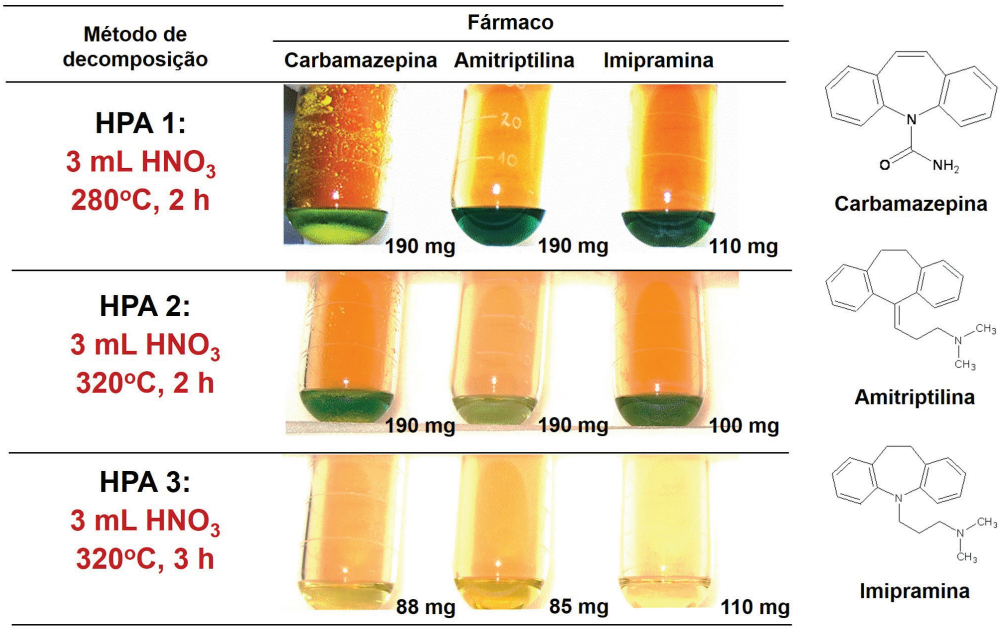

Figura 9.7. Digeridos obtidos para fármacos tricíclicos (carbamazepina, cloridrato de amitriptilina e cloridrato de imipramina) empregando diferentes procedimentos de decomposição no sistema HPA. Em todos os casos utilizaram-se frascos de quartzo com 70 mL de capacidade e rampas de aquecimento com duração de 90 a 100 min.

mento, a carbamazepina tem seus prótons aromáticos substituídos e que os dois hidrogênios dos carbonos da dupla ligação do anel de 7 membros desaparecem quando a amostra reage com HNO_3, indicando a nitração desses carbonos.[30] O espectro de ^{13}C confirma a presença de carbonos dos anéis aromáticos. Assim, é possível supor que ocorre a formação de uma estrutura química em que os hidrogênios (aromáticos e da dupla ligação do anel de 7 membros) são substituídos por grupos nitro, formando uma estrutura estável mesmo em elevadas temperaturas de decomposição. Somente com a redução da massa de amostra e aumento do tempo de digestão tal estrutura pode ser degradada. Considerando que muitos fármacos tricíclicos apresentam estrutura química semelhante à das amostras estudadas, é possível afirmar que problemas de decomposição podem ser esperados para algumas substâncias dessa classe.

Algumas espécies químicas contendo As, Hg, Se e Sb formam ligações estáveis com o carbono e podem não ser destruídas durante a digestão, dependendo das condições utilizadas.[23] Esse é o caso de amostras de origem marinha, que requerem temperaturas superiores a 300 °C para completa decomposição de espécies de

arsênio (*e.g.* arsenobetaína e óxido de trimetilarsina) com HNO_3. A Figura 9.8 traz resultados obtidos para a decomposição de hepatopâncreas de lagosta com HNO_3 no HPA sob diferentes temperaturas, considerando as espécies de arsênio presentes em solução após a digestão.

Como se observa na Figura 9.8, a oxidação de espécies orgânicas de arsênio à forma inorgânica (arsenato ou ácido arsênico, As(V)), depende da temperatura de decomposição empregada. A 220 °C, apenas 16% de As(V) está presente entre as diferentes espécies de arsênio, passando para 43% a 260 °C e 97% a

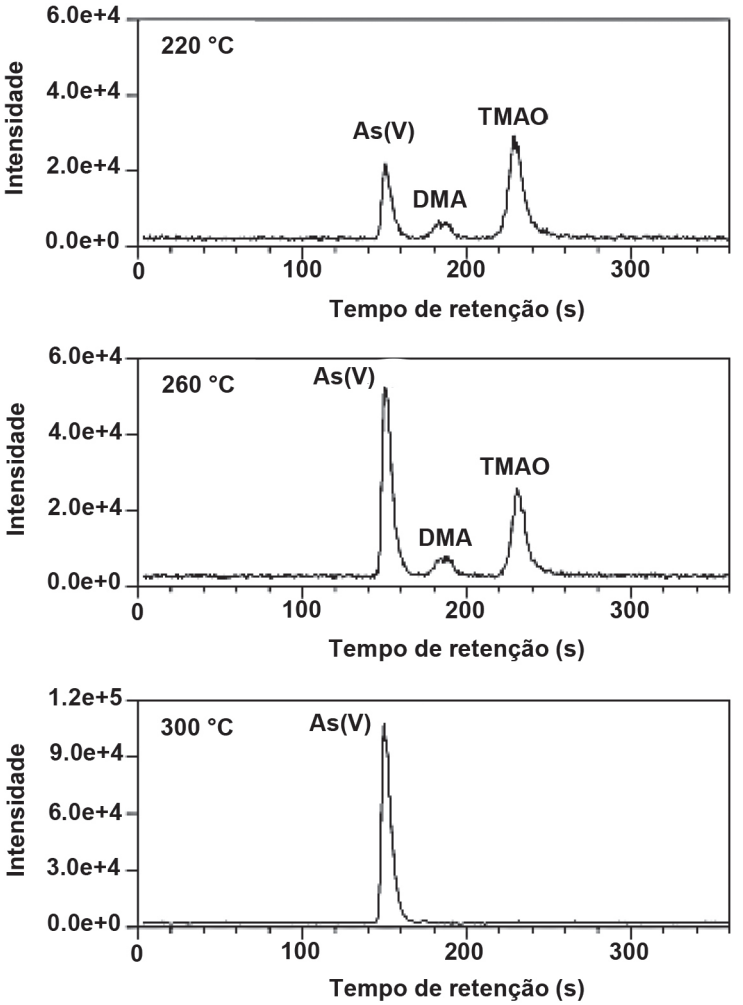

Figura 9.8. Cromatogramas de espécies de arsênio encontradas nas soluções após digestão de hepatopâncreas de lagosta com ácido nítrico em sistema de decomposição de alta pressão (HPA) sob diferentes temperaturas; As(V): arsenato; DMA: ácido dimetilarsínico; TMAO: óxido de trimetilarsina. Resultados obtidos com frascos de 35 mL, 200 mg de amostra, 4 mL HNO_3 e aquecimento por 90 min, com rampa de 20 min. Reproduzidos com autorização da *Royal Society of Chemistry*.[31]

300 °C.[31] Assim, dependendo do método analítico empregado para a determinação de arsênio em amostras de origem marinha, a decomposição incompleta dessas espécies pode afetar a exatidão. Esse é o caso da espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HGAAS), que é frequentemente utilizada para a determinação de arsênio, na qual as espécies apresentam reações de formação de hidretos com velocidade e eficiência diferentes, assim como processos de atomização diferentes.

9.3. COMPARAÇÃO ENTRE SISTEMAS ABERTOS E FECHADOS DE DECOMPOSIÇÃO

A escolha de um método de decomposição depende de uma série de fatores, como a composição química da amostra, a concentração do analito e a técnica escolhida para as determinações. Dependendo da atividade do laboratório, aspectos relacionados à rotina, como tempo de decomposição, atenção do operador e o número de amostras processadas em cada ciclo de decomposição também devem ser considerados, assim como o custo operacional e de aquisição e implementação dos equipamentos para preparo das amostras. Na Tabela 9.7, alguns parâmetros importantes para a escolha dos métodos de decomposição são apresentados, mostrando as principais características dos sistemas de decomposição abertos e fechados.

Tabela 9.7. Características de sistemas abertos e fechados de decomposição de amostras.

Parâmetro	Sistema aberto	Sistema fechado
Massa de amostra	alta	média
Consumo de reagentes	alto	médio
Eficiência de digestão	baixa	alta
Tempo de digestão	alto	baixo
Risco de perdas/contaminação	alto	baixo
Segurança	média	média
Compatibilidade do digerido	médio	alto
Custo	baixo	alto

Os sistemas abertos de decomposição são muito utilizados, principalmente pela possibilidade de decomposição de elevadas massas de amostra (maiores que 1000 mg) de maneira simples, sendo facilmente adaptados em rotina. Os equi-

pamentos empregados apresentam baixo custo de aquisição e manutenção, o que contribui para sua ampla utilização. Apesar da baixa eficiência de decomposição para algumas amostras orgânicas e a utilização de elevados volumes de reagentes, os sistemas abertos ainda apresentam larga utilização em rotina. Como comentado anteriormente neste capítulo, para a maioria das aplicações há necessidade de uso de HNO_3, que é um ácido oxidante com temperatura de ebulição relativamente baixa. A utilização de ácidos menos voláteis junto ao HNO_3, como o H_2SO_4, permite a elevação da temperatura de ebulição da mistura e consequente melhora na eficiência de digestão em sistemas abertos. Entretanto, a presença de sulfatos nos digeridos e a elevada acidez residual frequentemente causam interferências nas técnicas de determinação dos elementos, tais como em espectrometria de absorção atômica e técnicas baseadas em plasma indutivamente acoplado. Dessa forma, é importante avaliar se o RCC dos digeridos obtidos em sistemas abertos é tolerado na etapa de determinação, assim como a utilização de outros ácidos além do HNO_3 para decomposição.

Os sistemas de decomposição de amostras fechados permitem a decomposição de amostras orgânicas normalmente apenas com HNO_3, com maior eficiência (menores valores de RCC) em comparação aos sistemas abertos. Além disso, o uso de sistemas fechados minimiza perdas dos analitos por volatilização, bem como contaminação através do ar, reduzindo a possibilidade de erros sistemáticos no preparo das amostras. Apesar de todas essas vantagens, os sistemas fechados mencionados neste capítulo permitem a digestão de massas de amostras menores, tipicamente entre 200 e 500 mg, em comparação aos abertos e, normalmente, o custo é bastante superior, tanto para aquisição quanto para manutenção dos sistemas. Devido à operação sob elevadas temperaturas e pressões, os materiais utilizados nos sistemas fechados sofrem maior desgaste e há necessidade de troca de peças com maior frequência.

Cabe ressaltar que a pressão gerada dentro de sistemas fechados depende dos reagentes empregados para decomposição, assim como do sistema de decomposição utilizado. Recentemente, demonstrou-se que a utilização de HNO_3 com H_2O_2, associada ao resfriamento da parte superior de frascos fechados durante a decomposição, promove a regeneração de ácido nítrico, com consequente redução da pressão interna dos frascos.[6] Além disso, o reagente regenerado pode continuar o processo de oxidação, permitindo que massas maiores de amostras possam ser

decompostas mesmo em sistemas de baixa pressão.[6] Esse processo é similar àquele que ocorre na decomposição assistida por micro-ondas em frascos fechados com ácidos diluídos, que é descrito no Capítulo 10.

Com relação à segurança, os riscos associados a cada tipo de sistema podem variar. Em sistemas abertos, é imprescindível a utilização de sistemas de exaustão para evitar a exposição do analista aos vapores gerados durante a decomposição. Nos sistemas abertos a temperatura do bloco deve ser cuidadosamente regulada para evitar projeção das amostras, o que caracteriza mais um risco ao operador. Já nos sistemas fechados, esses riscos são minimizados e o operador entrará em contato somente com soluções em temperatura ambiente, durante a introdução do reagente e após a abertura do sistema de decomposição já arrefecido. Entretanto, a utilização de sistemas fechados requer cuidado com relação aos riscos de explosão ocasionadas pela geração de vapores durante o processo de decomposição. Assim, amostras que são facilmente oxidadas com liberação muito rápida de vapores (*e.g.* bebidas com alto teor alcoólico) podem ocasionar explosões nos primeiros minutos de decomposição, requerendo algum tempo de contato com ácido previamente à etapa de aquecimento. Outro aspecto a ser observado é o menor volume de reagentes empregado em sistemas fechados em comparação com os abertos. Adicionalmente, elevadas massas de amostras podem levar à liberação de uma grande quantidade de vapores, causando um aumento excessivo da pressão no interior do frasco. Apesar dos sistemas de decomposição fechados possuírem sistemas de proteção para impedir o risco de explosões, é importante conhecer o comportamento das amostras. No desenvolvimento de procedimentos de decomposição sob pressão, recomendam-se ensaios preliminares com pequenas massas de porções amostradas, programa de aquecimento com rampa tempo/temperatura e limitar a temperatura máxima.

Por fim, cabe ressaltar a importância da disposição dos resíduos gerados durante o processo de decomposição. Em geral, os digeridos obtidos pelos sistemas de decomposição abertos e fechados são similares, podendo ser tratados de maneira semelhante por meio da neutralização com bases. Contudo, em sistemas fechados muitas vezes são utilizados polímeros de elevada estabilidade química (*e.g.* polímeros fluorados, como o PTFE) para fabricação dos frascos ou partes desses, os quais devem ser dispostos adequadamente, após o prazo de vida útil.

REFERÊNCIAS

1. STOEPPLER, M. **Sample Preparation: an Introduction**. In: Stoeppler, M., Ed., **Sampling and Sample Preparation: Practical Guide for Analytical Chemists**, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1997. p. 132-141.
2. POLKOWSKA-MOTRENKO, H.; DANKO, B.; DYBCZYŃSKI, R.; KOSTER-AMMERLAAN, A.; BODE, P. Effect of acid digestion method on cobalt determination in plant materials. **Analytica Chimica Acta**, 408, 89-95, 2000.
3. SCP Science, DigiPREP blocks, www.scpscience.com. Acessado em: junho de 2016.
4. TÖLG, G. Extreme trace analysis of the elements—I. **Talanta**, 19, 1489-1521, 1972.
5. MÜLLER, E. I.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; KORN, M. d. G. A.; FLORES, É. M. M. **Chapter 4 - Wet Digestion Using Microwave Heating**. In: Ed., **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**, Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 99-142.
6. MIRANDA, K.; PEREIRA-FILHO, E. R.; GOMES NETO, J. A. A new closed-vessel conductively heated digestion system: fostering plant analysis by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 825-831, 2014.
7. HOWARD, M. E.; VOCKE, J. R. D. A closed system digestion and purification procedure for the accurate assay of chlorine in fossil fuels. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 19, 1423-1427, 2004.
8. QI, L.; ZHOU, M.-F.; GAO, J.; ZHAO, Z. An improved Carius tube technique for determination of low concentrations of Re and Os in pyrites. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 25, 585-589, 2010.
9. KELLY, W. R.; MURPHY, K. E.; BECKER, D. A.; MANN, J. L. Determination of Cr in certified reference material HISS-1, marine sediment, by cold plasma isotope dilution ICP-MS and INAA: comparison of microwave versus closed (Carius) tube digestion. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 18, 166-169, 2003.
10. WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E. Investigations on the carbon balance in decomposition of biological materials with nitric acid. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 322, 354-358, 1985.
11. TSCHÖPEL, P.; KOTZ, L.; SCHULZ, W.; VEBER, M.; TÖLG, G. Causes and elimination of systematic errors in the determination of elements in aqueous solutions in the ng/ml and pg/ml range. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 302, 1-14, 1980.
12. Anton Paar, High Pressure Asher Digestion System, www.anton-paar.com. Acessado em: junho de 2016.
13. KOTZ, L.; KAISER, G.; TSCHÖPEL, P.; TÖLG, G. Decomposition of biological materials for the determination of extremely low contents of trace elements in limited amounts with nitric acid under pressure in a teflon tube. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 260, 207-209, 1972.

14. KOTZ, L.; HENZE, G.; KAISER, G.; PAHLKE, S.; VEBER, M.; TÖLG, G. Wet mineralization of organic matrices in glassy carbon vessels in a pressure-bomb system for trace element analysis. **Talanta**, 26, 681-691, 1979.

15. MAY, I.; ROWE, J. J. Solution of rocks and refractory minerals by acids at high temperatures and pressures. **Analytica Chimica Acta**, 33, 648-654, 1965.

16. LANGMYHR, F. J.; SVEEN, S. Decomposability in hydrofluoric acid of the main and some minor and trace minerals of silicate rocks. **Analytica Chimica Acta**, 32, 1-7, 1965.

17. BERNAS, B. New method for decomposition and comprehensive analysis of silicates by atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, 40, 1682-1686, 1968.

18. DOLEŽAL, J.; LENZ, J.; ŠULCEK, Z. Decomposition by pressure in inorganic analysis. **Analytica Chimica Acta**, 47, 517-527, 1969.

19. SCHRAMEL, P.; WOLF, A.; SEIF, R.; KLOSE, B.-J. New device for ashing of biological material under pressure. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 302, 62-64, 1980.

20. STOEPPLER, M.; BACKHAUS, F. Pretreatment studies with biological and environmental materials. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 291, 116-120, 1978.

21. KNAPP, G. Routes to powerful methods of elemental trace analysis in environmental samples. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 317, 213-219, 1984.

22. JACKWERTH, E.; GOMISCEK, S. General-aspects of trace analytical methods. 6. Acid pressure decomposition in trace-element analysis. **Pure and Applied Chemistry**, 56, 479-489, 1984.

23. JACKWERTH, E.; WÜRFELS, M. **Pressure Digestion: Apparatus, Problems and Applications**. In: Stoeppler, M., Ed., **Sampling and Sample Preparation: Practical Guide for Analytical Chemists**, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1997. p. 142-154.

24. STOEPPLER, M.; MULLER, K. P.; BACKHAUS, F. Pretreatment studies with biological and environmental materials. 3. Pressure evaluation and carbon balance in pressurized decomposition with nitric acid. **Fresenius´ Zeitschrift Fur Analytische Chemie**, 297, 107-112, 1979.

25. BARROS, J. A. V. A.; DE SOUZA, P. F.; SCHIAVO, D.; NOBREGA, J. A. Microwave-assisted digestion using diluted acid and base solutions for plant analysis by ICP OES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 31, 337-343, 2016.

26. WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E.; STOEPPLER, M. On the composition of the residue of biological materials after pressure digestion with nitric acid. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 330, 160-161, 1988.

27. WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E.; STOEPPLER, M. About the problem of disturbances of inverse voltammetric trace analysis after pressure decomposition of biological samples. **Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie**, 329, 459-461, 1987.

28. BARNES, R. M., **Short Course on Plasma Spectrochemical Analysis**, Amherst, EUA: University of Massachusetts, 1994. 42 p.

29. BARIN, J. S.; TISCHER, B.; PICOLOTO, R. S.; ANTES, F. G.; DA SILVA, F. E. B.; PAULA, F. R.; FLORES, E. M. M. Determination of toxic elements in tricyclic active pharmaceutical ingredients by ICP-MS: a critical study of digestion methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 352-358, 2014.

30. BARIN, J. S., **Desenvolvimento de Procedimentos Alternativos de Preparo de Amostras e Determinação de Metais Pesados em Fármacos Tricíclicos**, Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química: Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

31. WASILEWSKA, M.; GOESSLER, W.; ZISCHKA, M.; MAICHIN, B.; KNAPP, G. Efficiency of oxidation in wet digestion procedures and influence from the residual organic carbon content on selected techniques for determination of trace elements. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 17, 1121-1125, 2002.

Capítulo 10

PREPARO DE AMOSTRAS ASSISTIDO POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS

Diogo Pompéu de Moraes
Cezar Augusto Bizzi
Joaquim Araújo Nóbrega
Érico Marlon de Moraes Flores
Ana Rita de Araujo Nogueira
Juliano Smanioto Barin
Márcia Foster Mesko

10.1. INTRODUÇÃO

A primeira referência ao uso da radiação micro-ondas na etapa de preparo de amostras ocorreu em 1975. Nesse trabalho, um forno de micro-ondas para uso doméstico foi utilizado para a decomposição de material biológico mediante aquecimento com uma mistura ácida em sistema aberto.[1] Embora a principal vantagem, o rápido aquecimento da solução, tenha ficado evidente, poucos pesquisadores fizeram uso deste tipo de equipamento nos anos seguintes. Somente a partir da década de 80, com o desenvolvimento de equipamentos específicos para laboratório, principalmente associados ao uso de sistemas fechados, a radiação micro-ondas ganhou espaço na área de química analítica.

Na década de 90 houve um aumento exponencial do emprego da radiação micro-ondas no preparo de amostras (Figura 10.1), principalmente devido ao desenvolvimento de frascos a base de fluoropolímeros que permitiram decomposições de amostras sob altas temperaturas e pressões. Além disso, a consolidação das técnicas de espectrometria óptica e de massa, com capacidade multi-elementar e elevada sensibilidade, exigiu avanços significativos das técnicas de preparo de amostras no que se refere à redução do tempo de decomposição e da quantidade de reagentes, a fim de minimizar a contaminação dos brancos analíticos. Atualmente, a radiação micro-ondas é utilizada em todas as áreas da química analítica, incluindo decomposições por vias úmida ou seca, processos de extração e sistemas de combustão, entre outras aplicações. No campo da análise química elementar quantitativa, a maioria das técnicas analíticas faz uso da amostra na forma de solução, sendo necessária uma etapa prévia de decomposição para a conversão dos analitos em sais solúveis e também para a redução das interferências associadas aos constituintes da matriz. Sob esse aspecto, atenção deve ser dada à decomposição de materiais biológicos, alimentos ricos em gorduras e proteínas, materiais poliméricos e petroquímicos em geral, devido à dificuldade de conversão dos analitos em formas adequadas para serem detectados.

Recentemente, novos materiais têm sido produzidos, envolvendo polímeros, compósitos, nanomateriais, compostos orgânicos e sólidos inorgânicos complexos para as mais variadas aplicações, de modo que há uma grande demanda para a análise química dos mais diversos elementos em matrizes complexas, visando garantir a qualidade destes produtos. A determinação de elementos químicos em

fluidos biológicos também é necessária para a elucidação de processos metabólicos e para o estudo do tratamento de diferentes tipos de câncer e doenças degenerativas. Neste sentido, os sistemas atuais para a decomposição de amostras operam com pressão e temperatura relativamente altas, geralmente até 100 bar e 300 ºC, com a finalidade de aumentar a eficiência da decomposição. Por fim, os sistemas têm incorporado cada vez mais os preceitos da química verde, principalmente com redução do volume e concentração dos reagentes, bem como da quantidade de resíduos químicos gerados.

De uma maneira geral, pode-se afirmar que o preparo de amostras com aquecimento por radiação micro-ondas proporciona decomposições mais rápidas e seguras do que aquelas baseadas em aquecimento condutivo, quando realizados em equipamentos adequados para esse fim. Neste capítulo, ênfase será dada aos fornos de radiação micro-ondas com frascos fechados de média a alta pressão e aos sistemas com radiação micro-ondas focalizada. Avanços recentes na literatura também são mencionados no final deste capítulo.

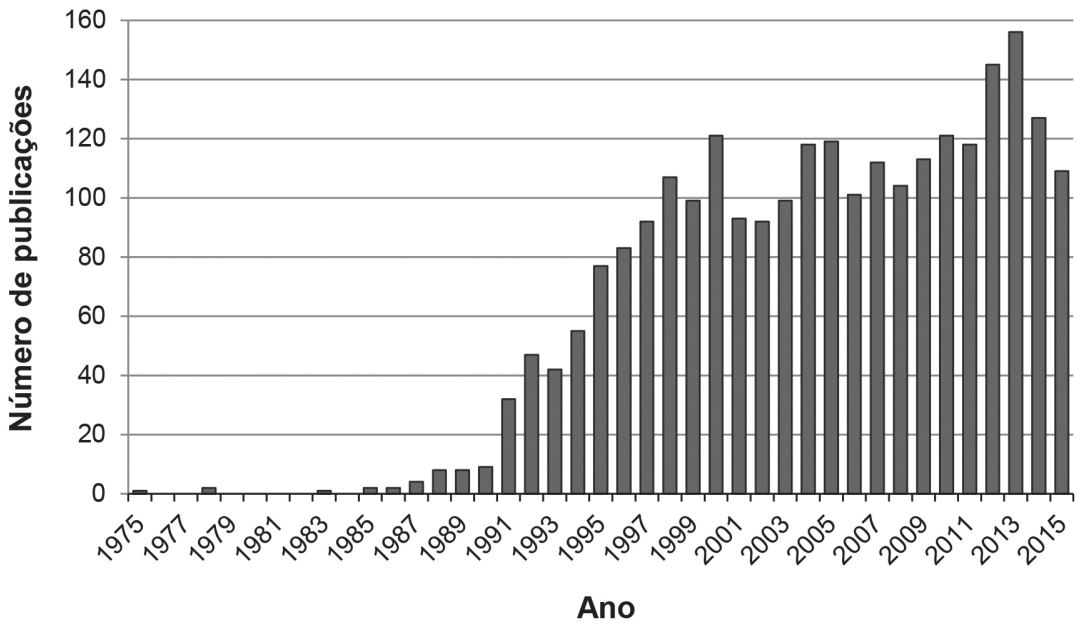

Figura 10.1. Número de publicações encontradas na literatura usando como palavras-chave *"microwave and digestion"* e filtro de área *"chemistry"* (total 2513 artigos). Pesquisa na base de dados do *Web of Science* (*ISI Web of Knowledge*, Thomson Reuters) em 16/05/2016.

10.2. CONCEITOS TEÓRICOS

A compreensão dos aspectos químicos e físicos do processo de preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas revela a necessidade de se conhecer e, idealmente, monitorar as condições de temperatura e pressão durante o processo de decomposição. Os reagentes devem ser criteriosamente escolhidos considerando a composição da matriz e os analitos, ressaltando que o emprego da radiação micro-ondas não substitui o conhecimento químico. Assim, a eficiência do processo de decomposição é dependente da ocorrência das reações químicas em condições ideais de temperatura e pressão. A instrumentação moderna, desenvolvida especificamente para decomposições assistidas por radiação micro-ondas, apresenta facilidades para medir a temperatura e a pressão do sistema amostra-ácido(s) durante o processo reacional, por meio da aplicação da tecnologia baseada em termometria com sensores do tipo termopar, de fibra óptica, no infravermelho e capilar preenchido com gás. É possível determinar tanto a temperatura no meio reacional (*in situ*) ou externamente.[2] Além disso, diversos materiais como o quartzo, permitem pressões de trabalho relativamente altas. Em contrapartida, materiais de baixa resistência mecânica, como politetrafluoretileno (PTFE), perfluoralcóxi (PFA) e PTFE quimicamente modificado (TFM®) necessitam de recobrimento por Kevlar®, poliéter-éter-cetona (PEEK) ou cerâmica para resistir à pressão sem que ocorra deformação do frasco de reação. O aumento da pressão está diretamente relacionado ao aumento da temperatura em sistema fechado. Geralmente, os sistemas atuais possibilitam as medições de pressão e temperatura ao longo de todo o ciclo de aquecimento. Contudo, o controle da pressão é mais importante, pois previne a ocorrência de explosões e, consequentemente, aumenta a segurança operacional do sistema. Dependendo do sistema de decomposição, a pressão pode ser controlada e ajustada ao valor programado pelo operador em qualquer momento do processo. O monitoramento em tempo real da pressão e da temperatura permite o controle das etapas do processo de decomposição, possibilitando a determinação experimental da duração e da potência mais adequadas de cada etapa do programa de irradiação para a completa decomposição da amostra. A proporção entre o volume de ácido e a massa de amostra também deverá ser considerada, pois está diretamente relacionada com a eficiência da decomposição em sistema fechado.

10.2.1. Relações básicas fundamentais

A radiação micro-ondas é um tipo de energia radiante caracterizada como radiação eletromagnética, uma vez que se propaga no espaço e apresenta velocidade constante no vácuo (2,997 x 10^8 m s^{-1}). Assim como as demais formas de radiação eletromagnética, a radiação micro-ondas pode ser descrita em termos de campo elétrico e campo magnético, diferindo das demais somente pelo comprimento de onda, *i.e.* pela frequência de propagação (Figura 10.2).[3,4] As radiações micro-ondas não são ionizantes. A interação da componente elétrica da onda da radiação micro-ondas resulta em movimento molecular pela migração de íons e pela rotação de dipolos, porém não causa mudança na estrutura molecular.[5] Cobrem uma faixa de frequências do espectro eletromagnético que varia de 300 MHz a 300 GHz (Figura 10.3). De acordo com o regulamento da Comissão Federal de Comunicações e das Leis Internacionais de Rádio, somente quatro frequências são permitidas para uso industrial, científico e doméstico: 915 ± 25, 2450 ± 13, 5800 ± 74 e 22125 ± 125 MHz. Os fornos de radiação micro-ondas comerciais, fabricados para uso doméstico ou para laboratórios, empregam radiação micro-ondas com frequência de 2450 MHz. A potência, que é gerada em um forno de radiação micro-ondas do tipo doméstico ou analítico, normalmente é superior a 600 W. Alguns equipamentos modernos operam com uma potência de 1500 W que, em outras palavras, significa um fornecimento de até 21510 cal min^{-1} (1 kW = 239 cal s^{-1}).[3,6]

Quando um material absorve radiação na frequência de micro-ondas, esse pode sofrer um rápido aumento na sua temperatura. No caso de líquidos, esse

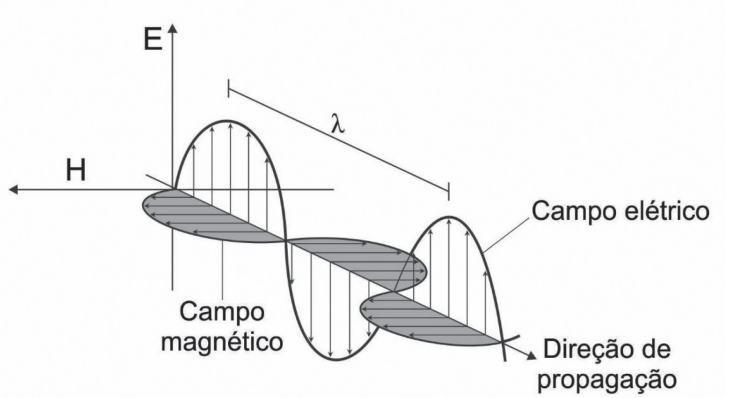

Figura 10.2. Ilustração de uma onda eletromagnética plano polarizada: E = campo elétrico; H = campo magnético; λ = comprimento de onda.

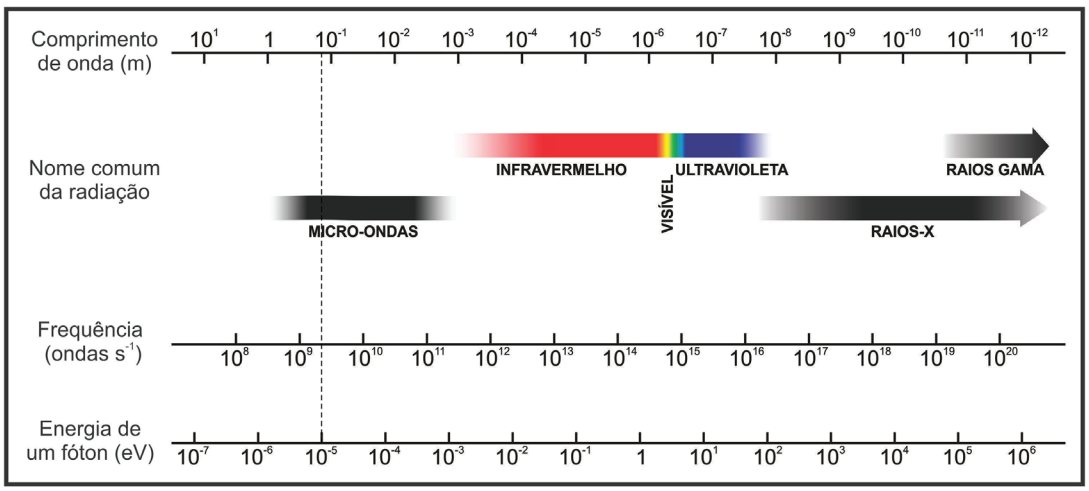

Figura 10.3. Representação de uma parte do espectro eletromagnético, destacando a radiação micro-ondas de 2,45 GHz (comprimento de onda: 12,2 cm; energia: 10^{-5} eV).

efeito deve-se a processos relaxativos de dissipação da energia, principalmente, pela presença de íons dissolvidos e do solvente polar. Como resultado, observam-se os fenômenos de *migração iônica* e *rotação de dipolos*, respectivamente.[7,8] Esses dois processos resultam em um movimento das espécies no material e, consequentemente, no aquecimento do mesmo. O processo de aquecimento é resultante da orientação de dipolos e movimentação de íons de acordo com o campo elétrico aplicado. A oscilação do campo elétrico na frequência da radiação micro-ondas induz um novo alinhamento de moléculas dipolares e alteração da trajetória dos íons em solução. Dessa forma, ocorre dissipação da energia micro-ondas na forma de calor, resultando no aquecimento da solução.[7,8]

Apesar do rápido aquecimento observado quando líquidos polares são irradiados com micro-ondas, um aspecto importante a ser observado é que nesta faixa do espectro eletromagnético não há energia suficiente para promover a quebra de ligações químicas, diferente do que ocorre, por exemplo, com o uso de radiação ultravioleta (Tabela 10.1). Mesmo assim, a dissipação da energia micro-ondas como calor é atrativa do ponto de vista químico. A magnitude da transformação da energia eletromagnética em calor irá depender, basicamente, da estrutura molecular, a qual determinará a polaridade da molécula e, consequentemente, as interações intermoleculares. Essas propriedades permitem algum controle da forma de aquecimento dos materiais e na seletividade das reações.

Tabela 10.1. Energias de radiações eletromagnéticas de diferentes regiões do espectro e energias de ligação de algumas substâncias.

Radiação eletromagnética e energia relacionada			
Tipos de Radiação	**Comprimento de onda (m)**	**Frequência (Hz)**	**Energia (eV)**
Raios-γ	$< 10^{-11}$	$> 10^{19}$	$> 10^{5}$
Raios-X	3×10^{-11} a 3×10^{-8}	10^{16} a 10^{19}	41 a $4{,}1 \times 10^{4}$
Ultravioleta	3×10^{-8} a 4×10^{-7}	10^{14} a 10^{16}	0,41 a 41
Visível	4×10^{-7} a 8×10^{-4}	10^{14}	0,41
Infravermelho	8×10^{-4} a 3×10^{-3}	10^{11} a 10^{14}	$4{,}1 \times 10^{-4}$ a 0,41
Micro-ondas	3×10^{-3} a 3×10^{-1}	10^{9} a 10^{11}	$4{,}1 \times 10^{-6}$ a $4{,}1 \times 10^{-4}$
Ligação química e energia relacionada			
Ligação química			**Energia (eV)**
H-OH			5,2
$H\text{-}CH_3$			4,5
$H\text{-}NHCH_3$			4,3
$H_3C\text{-}CH_3$			3,8

O mecanismo de transferência de energia das micro-ondas é bem diferente dos três modos convencionais de transferência da energia térmica: condução, convecção e irradiação. O mecanismo de aquecimento por radiação micro-ondas, ao contrário dos sistemas baseados no aquecimento condutivo (por exemplo, chapas aquecedoras e chamas), envolve a absorção da energia diretamente pelo material que está sendo aquecido (Figura 10.4). No caso de líquidos, a dissipação da energia micro-ondas ocorre, principalmente, pelos mecanismos de migração iônica e rotação de dipolos.

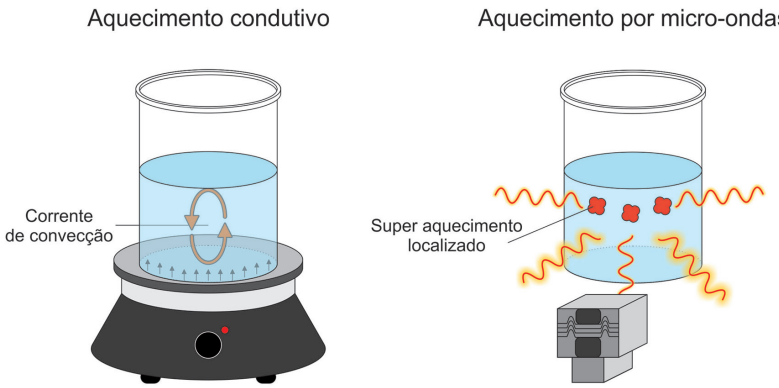

Figura 10.4. Esquema simplificado das formas de aquecimento condutivo e por radiação micro-ondas.

10.2.1.1. Migração Iônica

A migração iônica, ou condução iônica, pode ser descrita como a migração condutiva de íons dissolvidos quando um campo elétrico é aplicado (migração eletroforética). O movimento dos íons é causado pela interação entre as espécies iônicas e o campo elétrico oscilante da radiação micro-ondas. Os íons se deslocam produzindo um fluxo de corrente (Figura 10.5), cujo movimento sofre resistência causada por outras espécies com fluxo oposto ao deslocamento. Como consequência dessa resistência, ocorre dissipação de energia e aumento na temperatura do meio. A mobilidade iônica aumenta com a temperatura, contribuindo cada vez mais para o aquecimento em soluções.[5,9]

Todos os íons em solução contribuem para o processo de aquecimento. A contribuição de cada íon depende de sua concentração e de sua mobilidade no meio. A mobilidade dos íons depende do tamanho, da carga, da condutividade, da temperatura e da viscosidade da solução e, também, do tipo de solvente.[10] O mecanismo de migração iônica é particularmente importante no caso da exposição de líquidos iônicos à radiação micro-ondas, para os quais essa forma de aquecimento é determinante.

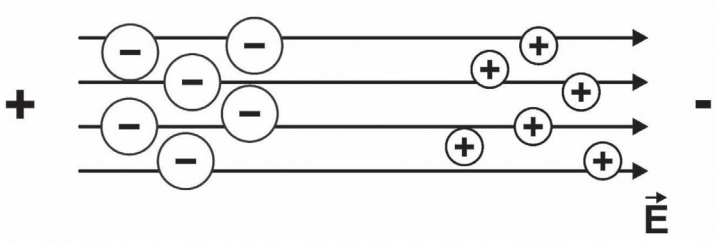

Figura 10.5. Representação esquemática do processo de migração iônica.

10.2.1.2. Rotação de dipolos

A rotação de dipolos está relacionada com o alinhamento das moléculas polares (momento dipolar permanente ou induzido) em uma solução, devido à presença de um campo elétrico (Figuras 10.6 e 10.7).[3] O movimento de orientação com o campo elétrico apresenta resistência, que causa a dissipação de energia na forma de calor. Quando o campo é removido, as moléculas retornam ao estado não alinhado, em um certo tempo (denominado tempo de relaxação dielétrica, t), e energia é liberada na forma de calor. Em 2,45 GHz, o alinhamento das moléculas

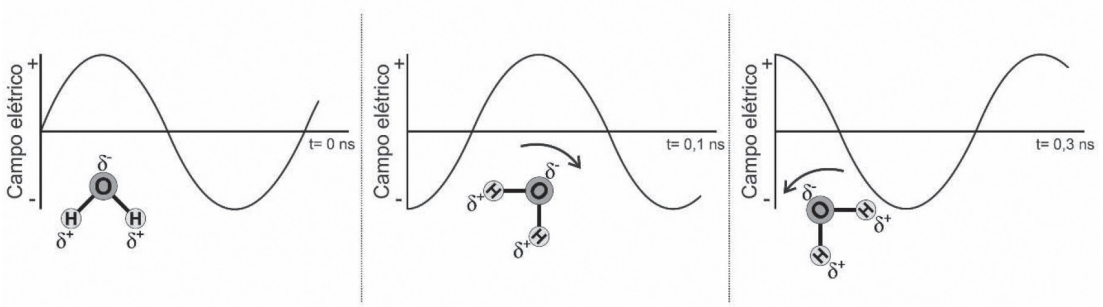

Figura 10.6. Representação esquemática da rotação de uma molécula de água na presença do campo elétrico gerado pela radiação micro-ondas.

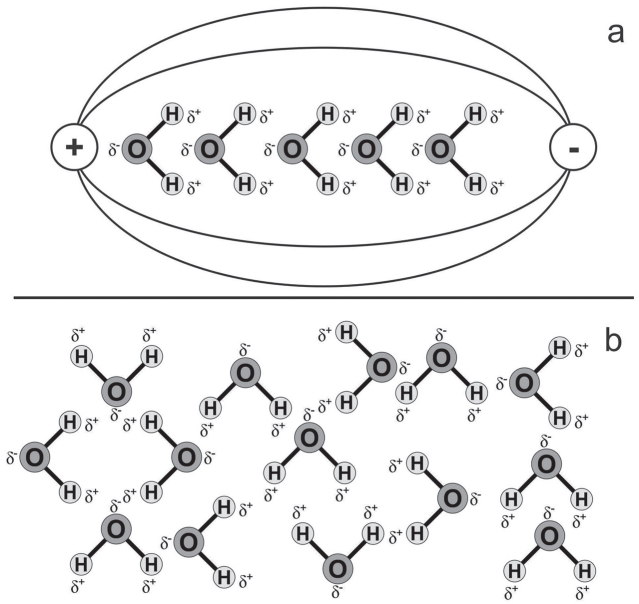

Figura 10.7. Representação do arranjo molecular ao campo elétrico provocado por radiação micro-ondas. (a) moléculas polares alinhadas com os polos do campo elétrico; (b) desordem molecular resultante quando o campo elétrico é interrompido.

seguido por seu retorno a desordem ocorre 4,9 x 10^9 vezes por segundo, resultando em um rápido aquecimento.[5]

10.2.1.3. Fatores que influenciam o aquecimento por radiação micro-ondas

Nas decomposições assistidas por micro-ondas a radiação eletromagnética é absorvida e convertida em energia térmica (calor), com o consequente aquecimento do meio reacional. Como os materiais diferem na sua habilidade de conversão da

radiação eletromagnética em calor, é importante conhecer os fatores que governam essa forma de aquecimento. Dentre esses, serão destacados os mais relevantes. O primeiro deles representa a habilidade do material absorver a radiação eletromagnética, denominado constante dielétrica (ε'). A capacidade de dissipação de energia na forma de calor por um material é denominada de fator de perda dielétrica (ε"). Quanto maior o valor de ε", maior a capacidade do material em transformar a energia eletromagnética em calor. O fator de dissipação (tg δ) é dado pela relação entre o fator de perda dielétrica e a constante dielétrica (equação 1).

$$\text{tg } \delta = \varepsilon'' / \varepsilon' \quad (1)$$

Quanto mais elevado for o valor do fator de dissipação, maior será a capacidade do material em absorver a radiação micro-ondas e dissipá-la na forma de energia térmica, *i.e.* a magnitude da razão ε"/ε' fornece uma ideia da transformação da energia das micro-ondas em calor em cada material. Valores do fator de dissipação de alguns sólidos[11] e líquidos[12] são apresentados na Tabela 10.2.

Tabela 10.2. Fatores de dissipação (tg δ) de sólidos e líquidos. Medidas efetuadas em 2,45 GHz a 25 ºC.

Sólidos	Fator de dissipação (tg δ)	Líquidos	Fator de dissipação (tg δ)
Quartzo fundido	$0{,}6 \times 10^{-4}$	Etileno glicol	1,350
Cerâmica	$5{,}5 \times 10^{-4}$	Etanol	0,941
Vidro borossilicato	$10{,}6 \times 10^{-4}$	1-Butanol	0,799
Vidro fosfatado	46×10^{-4}	1-Propanol	0,757
Sílica	$0{,}6 \times 10^{-4}$	Metanol	0,659
Porcelana	11×10^{-4}	Água	0,157
Polietileno	$3{,}1 \times 10^{-4}$	NaCl 0,1 mol L^{-1}	0,240
Polipropileno	$2{,}0 \times 10^{-4}$	NaCl 0,3 mol L^{-1}	0,435
Politetrafluoretileno	$1{,}5 \times 10^{-4}$	NaCl 0,5 mol L^{-1}	0,625
PFA	$1{,}5 \times 10^{-4}$	Tolueno	0,040

O tempo de relaxação dielétrica influencia diretamente o aquecimento promovido pelo mecanismo de rotação de dipolos; o tempo de relaxação diminui com o aumento da temperatura, diminuindo a capacidade do material em absorver

a radiação micro-ondas (consequentemente, observa-se uma redução no valor de tg δ, Tabela 10.3).[8] Com o aumento da temperatura, observa-se uma redução na viscosidade do líquido. Nessa condição, as moléculas do líquido apresentam maior liberdade de girarem sobre seu eixo e menor quantidade de energia é dissipada na forma de calor (redução no valor de ε" pela menor resistência ao movimento).

Tabela 10.3. Efeito da temperatura no fator de dissipação da água. [adaptada de Kingston e Jassie[13]].

Temperatura (°C)	tg δ (× 10^{-4})
1,5	3100
5,0	2750
15,0	2050
25,0	1570
35,0	1270
45,0	1060
55,0	890
65,0	765
75,0	660
85,0	547
95,0	470

Em sólidos e solventes orgânicos, o comportamento observado geralmente é o oposto e o aumento da temperatura resulta no aumento do fator de dissipação, o que pode resultar em pontos de superaquecimento denominados *hot spots*.[8]

A viscosidade também afeta a habilidade do material em dissipar energia micro-ondas por seu efeito na rotação molecular. Conforme a temperatura aumenta, as interações moleculares se tornam menos intensas e a mobilidade dos dipolos em se orientarem pela ação do campo elétrico da radiação micro-ondas aumenta, reduzindo a resistência ao movimento e dissipando menos energia na forma de calor. Esse fator exerce influência sobre o fator de dissipação somente no início do aquecimento dielétrico (até a viscosidade atingir valores que não afetem a mobilidade molecular).

Outro fator que influencia a interação da radiação com a matéria é a profundidade de penetração (D_P), que pode ser determinante para a obtenção de um aquecimento sem gradiente de temperatura. Cada material apresentará uma profundidade de penetração única, dependente da frequência da radiação micro-ondas e da constante dielétrica de cada material (ε'). Quanto maior a capacidade do mate-

rial de absorver a radiação eletromagnética, menor será a profundidade de penetração. A D_P será mínima quando o valor de ε' for máximo e, nesse caso, o aquecimento passa a ser superficial. Portanto, o aquecimento sem gradiente de temperatura também dependerá do tamanho do material que está sendo aquecido. Para água, por exemplo, a profundidade de penetração é de cerca de 5 cm a 25 °C (2,45 GHz).[5]

A frequência é outro fator determinante para a extensão do aquecimento por radiação micro-ondas. Com a modificação da frequência, observa-se mudança no valor da constante dielétrica e, portanto, na profundidade de penetração e no fator de dissipação. Na Figura 10.8 estão representadas as propriedades dielétricas da água em função da frequência, a 25 °C. É interessante observar que valores apreciáveis de perdas dielétricas (ε") ocorrem acima de 5 GHz, mas o maior aquecimento, representado pelo máximo valor de tg δ, ocorre próximo de 20 GHz. A razão prática para se utilizar baixa frequência (2,45 GHz) nos fornos de radiação micro-ondas domésticos é a necessidade dos alimentos serem eficientemente aquecidos em seu interior. Quando a frequência é ótima para maximizar a taxa de aquecimento (máxima absorção, mínima profundidade de penetração), as radiações micro-ondas são absorvidas somente nas regiões próximas da superfície, penetrando pouco no material e resultando em um gradiente de temperatura.[5,8,9]

De um modo geral, a irradiação de um material com micro-ondas pode resultar em:[8,9]

a) Reflexão: o material reflete a radiação sem ser afetado pela mesma;
b) Transparência: materiais que apresentam baixo valor de tg δ; a radiação micro-ondas atravessa o material sem provocar nenhum efeito no mesmo;
c) Absorção: materiais que apresentam elevado valor de tg δ; o material absorve total ou parcialmente a radiação, sendo passível de aquecimento.

10.2.1.4. Água como solvente

Como, na maioria dos casos, o analista utiliza soluções aquosas para a realização de uma análise, é conveniente conhecer o efeito da radiação micro-ondas sobre a água.

Em soluções aquosas, a migração iônica aumenta com a temperatura, mas a contribuição da rotação de dipolo diminui. Portanto, quando a água é aquecida mediante irradiação com micro-ondas, a absorção de radiação é, em princípio,

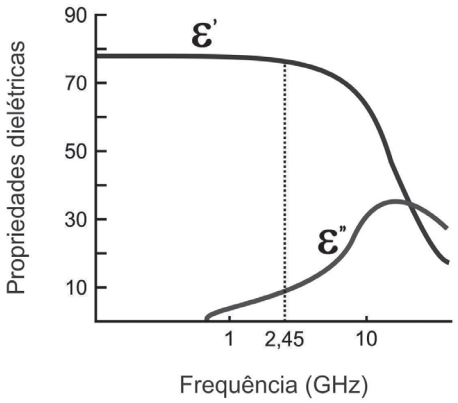

Figura 10.8. Propriedades dielétricas da água em função da frequência. Adaptada de Kingston e Haswell,[14] com permissão da American Chemical Society.

dominada pela contribuição da rotação de dipolos. Entretanto, à medida que a temperatura aumenta, a contribuição da migração iônica torna-se mais importante. A contribuição relativa de cada um destes fatores depende, essencialmente, da mobilidade de íons e de dipolos (dependente da viscosidade) e do tempo de relaxação. Em uma solução aquosa contendo um ácido ou uma mistura de ácidos, a concentração iônica da solução também desempenha um papel importante na capacidade da solução em absorver radiação.

Assim, se a mobilidade e a concentração iônica forem baixas, o aquecimento da amostra dependerá, essencialmente, da rotação de dipolos. Por outro lado, à medida que a mobilidade e a concentração de íons aumentam, o aquecimento por radiação micro-ondas será dominado pela migração iônica e o tempo de aquecimento dependerá cada vez menos do tempo de relaxação da solução. É importante observar que a energia não é absorvida apenas por líquidos polares (ácidos minerais, solventes orgânicos, reagentes e misturas aquosas), produzindo calor e acelerando as reações químicas, mas, também, por algumas moléculas da amostra; em menor extensão, ocorre absorção de radiação pelos materiais dos frascos, onde a amostra está contida e por superfícies que, idealmente, não se desejaria aquecer durante a irradiação.

Em termos de segurança, a radiação micro-ondas pode, também, ser absorvida por tecidos biológicos. Na maioria dos países já estão estabelecidas faixas de tolerância e os limites para a frequência da energia eletromagnética, tempo de exposição, massa do corpo, periodicidade de exposição etc. A exposição à radiação de fornos de micro-ondas domésticos ou de laboratório é limitada a 5 mW cm^{-2} a uma distância de 5 cm de qualquer superfície do sistema. Os fabricantes devem informar

o projeto e controle de qualidade dos produtos, incluindo medidas de segurança quanto à radiação e acidentes, além de informar qualquer defeito no produto que represente risco da incidência de radiação aos seres humanos.

10.3. INSTRUMENTAÇÃO

10.3.1. Aspectos gerais

Desde a primeira aplicação da radiação micro-ondas para o preparo de amostras, a instrumentação para esse fim vem sendo constantemente aprimorada. Atualmente, há equipamentos com aquecimento por radiação micro-ondas que utilizam frascos abertos e fechados, principalmente para decomposições em batelada. Sistemas para decomposições em fluxo são, normalmente, desenvolvidos a partir da associação de instrumentos de laboratório para uma aplicação específica.[15-20] Muitos desses sistemas estão descritos em detalhes em livros[3,13,14,21] e artigos de revisão[22-25] e serão discutidos com mais ênfase ao longo deste capítulo. Na Tabela 10.4 estão apresentados alguns dos principais fabricantes de fornos de radiação micro-ondas para aplicações analíticas em laboratórios.

Os sistemas com aquecimento por radiação micro-ondas podem ser classificados como monomodo, multimodo e multimodo direcionado (Figura 10.9). Os sistemas monomodo permitem a formação de ondas estacionárias que possuem a mesma amplitude, mas oscilam em diferentes direções.[26] Esses sistemas permitem uma elevada taxa de aquecimento porque a amostra é sempre disposta nos antinós do campo, onde a intensidade da radiação micro-ondas é mais alta. Como, geralmente, uma cavidade pequena é usada, somente um frasco de decomposição pode ser irradiado por vez.

Os sistemas multimodo liberam a radiação micro-ondas em uma cavidade, podendo ser usados múltiplos frascos de decomposição. Devido ao tamanho da cavidade, as taxas de aquecimento e resfriamento são menores que nos sistemas monomodo. Apesar disso, esses equipamentos são os mais usados, especialmente para os sistemas com frascos fechados de decomposição. Os sistemas híbridos (sistema multimodo direcionado), que incluem a combinação dos sistemas monomodo e multimodo permitem a irradiação mais homogênea em uma cavidade bastante compacta. Esse modo híbrido resulta em elevadas taxas de aquecimento e de res-

Tabela 10.4. Fabricantes de fornos para decomposição de amostras assistida por radiação micro-ondas.

Fabricantes	Equipamentos
Anton Paar GmbH	Sistemas monomodo, multimodo e multimodo direcionado para fornos com cavidade para decomposições por via úmida em frascos fechados, sistema de evaporação e concentração de amostras, decomposições por via úmida combinada com radiação ultravioleta e combustão iniciada por radiação micro-ondas.
Berghof Products / Instruments GmbH	Sistemas multimodo para fornos com cavidade usando frascos fechados para decomposição por via úmida.
CEM Corporation	Sistemas monomodo e multimodo de decomposições por via úmida em frascos abertos e frascos fechados, sistema de evaporação e concentração de amostras, sistema de decomposição em sistema aberto (mufla).
Milestone	Sistemas multimodo para decomposições por via úmida em frascos fechados, sistema de decomposição por via seca em sistema aberto (mufla), sistema de evaporação e concentração de amostras, sistema de câmara única de reação para decomposições em alta pressão e temperatura.
PreeKem Scientific Instruments	Sistemas multimodo para fornos com cavidade e frascos fechados de decomposição.
Questron Technologies	Sistemas multimodo para fornos com cavidade e frascos fechados de decomposição.
SCP Science	Sistemas monomodo e multimodo para fornos com cavidade e frascos fechados de decomposição.
Sineo Microwave Chemistry Technology	Sistemas multimodo para fornos com cavidade e frascos fechados de decomposição.

friamento (características dos sistemas monomodo) combinadas com a capacidade de processamento de diversos frascos de decomposição (típica dos sistemas multimodo).

10.3.2. Fornos de radiação micro-ondas

Equipamentos multimodo (com cavidade) para fins analíticos possuem, fundamentalmente, seis componentes (Figura 10.10):

i. Magnetron
ii. Guia de ondas
iii. Distribuidor de ondas (refletor rotatório)
iv. Cavidade
v. Frasco(s) de decomposição
vi. Rotor

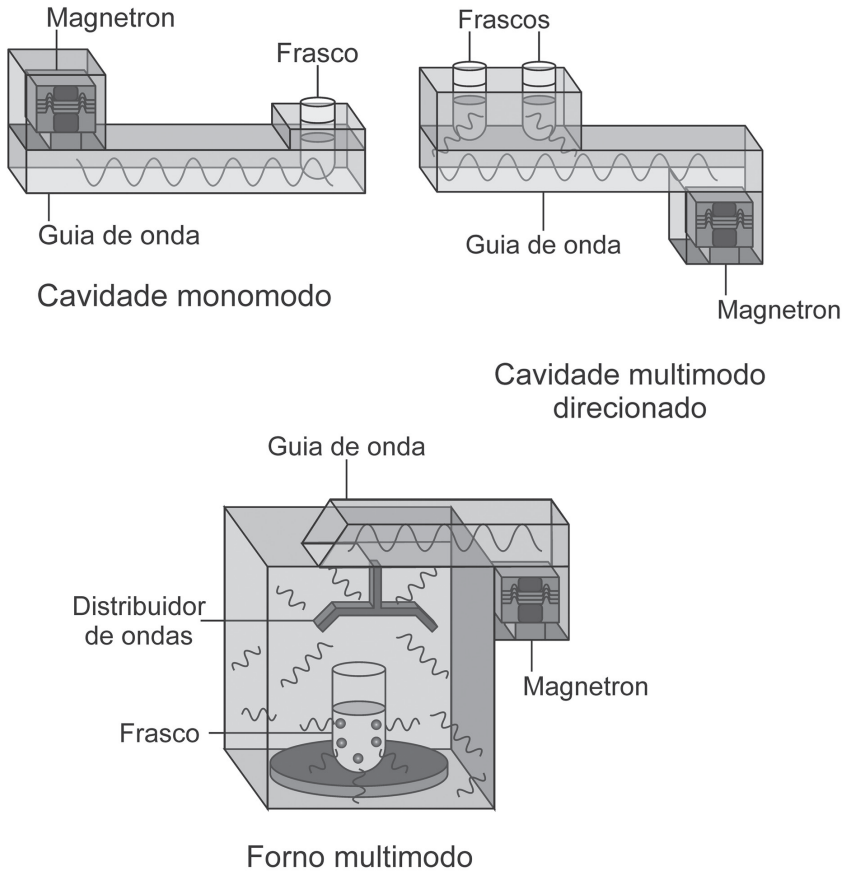

Figura 10.9. Modos de aplicação da radiação micro-ondas. Adaptada com permissão da Anton Paar GmbH.

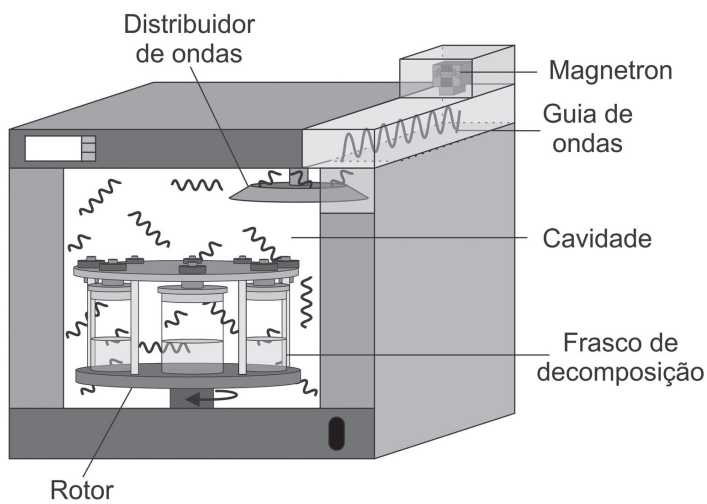

Figura 10.10. Representação esquemática de um forno multimodo, mostrando frascos de decomposição em um rotor, sob ação de radiação micro-ondas espalhada por um refletor rotatório.

A radiação produzida pelo magnetron é transportada através do guia de ondas para a cavidade, onde é dispersa pelo distribuidor em direções específicas, que permitem uma maior irradiação da zona próxima ao centro da cavidade. A bandeja rotatória permite exposição mais homogênea e reprodutível das amostras à radiação, dependendo do projeto do forno. Existem fornos que operam com dois magnetrons, garantindo maior homogeneidade e intensidade na transferência de energia para cada frasco de decomposição. O número de frascos varia dependendo do fabricante e, em alguns casos, rotores com até 48 frascos podem ser utilizados. Um fabricante oferece um modelo que emprega sistema de decomposição com circulação forçada de ar junto às paredes dos vasos de reação favorecendo, assim, o gradiente de temperatura entre a base e a parte superior do frasco. Dessa forma, maximiza-se o retorno dos vapores gerados, após aquecimento, para a solução, garantindo-se o refluxo da solução no frasco, que permanece absorvendo a radiação micro-ondas durante todo o ciclo de aquecimento. Adicionalmente, o processo de ventilação forçada favorece a etapa de arrefecimento após o ciclo de aquecimento. No caso de acidentes com vazamento de vapores ácidos, o processo de ventilação auxilia na remoção dos vapores do interior da cavidade do equipamento.

De todos os componentes mencionados, o magnetron mereceu uma atenção especial no passado. Hoje é considerado um componente simples e de custo relativamente baixo. Consiste da combinação de um cátodo com um ânodo oco, que possui uma série de cavidades de ressonância organizadas em uma geometria cilíndrica. Próximo ao cátodo desse tubo é gerado um campo magnético. Quando se aplica uma alta voltagem no cátodo, elétrons são liberados e migram em direção ao ânodo, que entram em ressonância sob a influência do campo magnético. Nessas condições, os elétrons cedem energia com frequência fixa ou variável. Todos os instrumentos para decomposição de amostras possuem 1 ou 2 magnetrons, que geram micro-ondas com uma frequência fixa de 2450 MHz. Cabe ressaltar que a eficiência de conversão da energia elétrica consumida com a radiação micro-ondas é de 60 a 70% para os fornos convencionais (entre 600 e 1400 W).

Em fornos de micro-ondas domésticos, a potência de radiação emitida pelo magnetron é, normalmente, controlada mediante a fixação de ciclos de operação de forma descontínua. Esses “ciclos de trabalho” definem a relação de tempo no qual o magnetron permanece ativo ou inativo (modo pulsante). No caso dos

fornos de radiação micro-ondas utilizados em laboratório, esses geralmente trabalham no modo contínuo de irradiação e, consequentemente, permitem a variação da potência do magnetron sem interrupção de irradiação. A eficiência na produção de radiação micro-ondas de um magnetron é afetada, principalmente, pelo superaquecimento do mesmo. O retorno das ondas ao seu ponto de origem por reflexão é uma das principais causas do superaquecimento. Em equipamentos modernos esse inconveniente não se constitui em uma limitação séria, em função do guia de ondas e dos dissipadores existentes na cavidade para distribuição da radiação.

Embora o princípio de aquecimento por radiação micro-ondas seja o mesmo, independentemente do sistema ser monomodo ou multimodo, cada instrumento apresenta particularidades de acordo com o domínio tecnológico de cada fabricante.

Alguns equipamentos possuem um sistema óptico de medição de temperatura e pressão (Berghof, modelo *Speedwave Four*). Nesse caso, a temperatura é medida por meio de um sensor que opera na região do infravermelho médio (transparente ao quartzo e TFM®-PTFE). Assim, os dados de temperatura correspondem, com exatidão, à temperatura da mistura reacional, independente da temperatura do frasco. Para a medição de pressão um feixe de luz polarizada incide sobre um dispositivo de vidro, que se desloca por ação da pressão, desviando o feixe de luz em relação ao sistema de detecção posicionado na lateral da cavidade do equipamento. Cabe ressaltar que esse equipamento monitora, simultaneamente, os dados de temperatura e pressão para cada frasco de forma indireta, sem que seja necessário utilizar sondas de imersão (*probes*) ou frasco de referência (Figura 10.11).

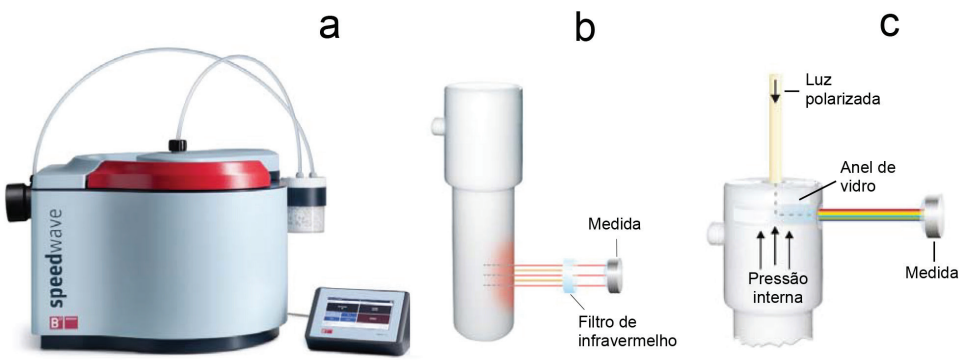

Figura 10.11. (a) Forno de micro-ondas com sistema simultâneo de medição de (b) temperatura e (c) de pressão (Berghof, modelo *Speedwave*). Reproduzida com permissão de Berghof Products / Instruments GmbH.

Há, também, um forno de micro-ondas que utiliza um sistema monomodo que permite um ciclo de decomposição completo em tempo reduzido (< 10 min). Além disso, esse sistema possui um auto-amostrador com até 48 posições, que opera de forma automatizada e permite a programação de aquecimento individual de acordo com o tipo de amostra (CEM Corporation, sistema *Discover SP-D*). O sistema conta com um dispositivo que é capaz de remover o excesso de subprodutos gasosos sem que ocorra a perda de elementos voláteis. Esse sistema é equipado com um sensor de pressão de alta sensibilidade que permite o alívio do excesso de pressão sem que haja a necessidade de interromper o ciclo de aquecimento. De acordo com o fabricante, com esse sistema é possível decompor até 2 g de amostra em frascos individuais de 35 mL (Figura 10.12).

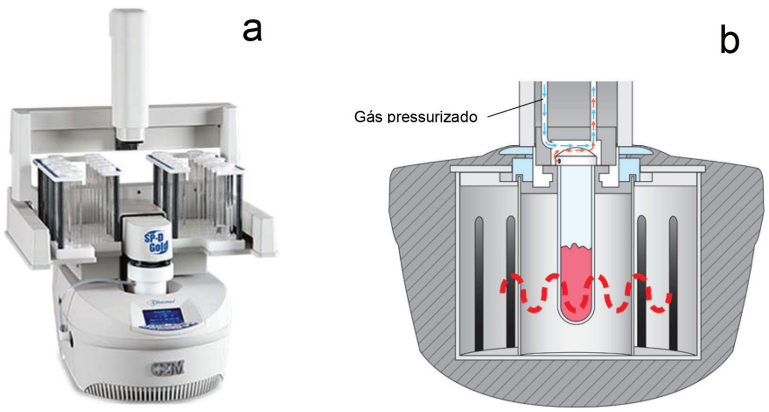

Figura 10.12. (a) Forno de micro-ondas, sistema monomodo com (b) dispositivo de alívio de pressão durante a decomposição (CEM Corporation, modelo *Discover SP-D*). Reproduzida com permissão.

Recentemente, foi desenvolvido um sistema multimodo assistido por radiação micro-ondas (Milestone, modelo *Ethos Up*) equipado com acessório para conexão *online* e monitoramento remoto dos parâmetros reacionais do ciclo de aquecimento empregando dispositivos móveis (celulares e/ou tablets). O dispositivo permite acesso a uma biblioteca de aplicações, bem como suporte *online* para atender aos usuários. O sistema também conta com um dispositivo de segurança de abertura e fechamento dos frascos (sistema *Vent-and-reseal*) que permite o alívio da pressão excedente sem que ocorra projeção da amostra. Esse sistema atua paralelamente aos sensores de pressão e temperatura, sendo de fundamental importância na decomposição de amostras que resultem em reações muito exotérmicas (Figura 10.13). Adicionalmente, esse sistema permite um resfriamento rápido (180 °C

para 40 °C em 10 min). Dois novos rotores foram projetados para uso com o Ethos UP possibilitando atingir elevada eficiência de digestão para grande número de amostras simultaneamente digeridas. Um desses rotores, denominado SK-15, contém 15 frascos reacionais de TFM com volumes de 100 mL, sendo aplicável para todos os tipos de amostras. O outro rotor, MAXI-44, contém 44 frascos reacionais construídos com esse mesmo material e mesmo volume, sendo preferencialmente aplicável para amostras ambientais e com alto conteúdo de compostos orgânicos. Ambos os rotores são totalmente compatíveis com os procedimentos recomendados pela Agência Ambiental Norte-Americana, tais como US EPA 3015, 3051 e 3052. Os frascos reacionais são equipados com dispositivos de alívio de pressão e autofechamento, o que proporciona alto nível de segurança. Ressalta-se ainda que também são disponíveis frascos secundários de quartzo de alta pureza ou TFM (do inglês, *inserts*) para digestões de menores massas de amostras com menores volumes de reagentes e, consequentemente, menores fatores de diluição. O Ethos UP é equipado com uma câmera no interior da cavidade e uma janela lateral transparente que possibilitam a visualização de eventual escape de gases durante o processo de digestão.

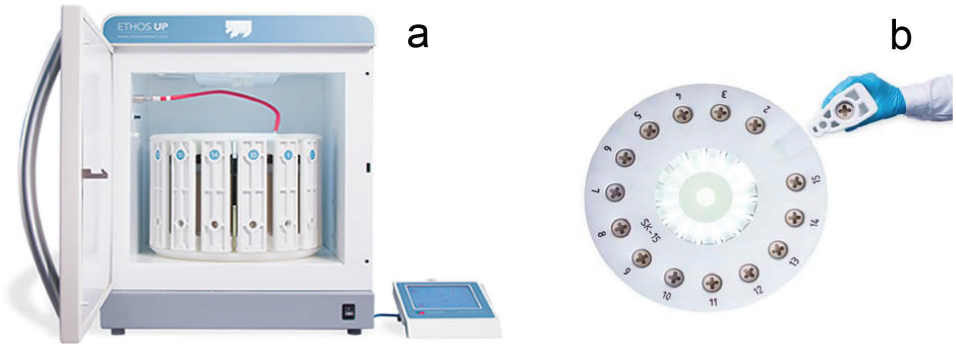

Figura 10.13. (a) Forno de micro-ondas, sistema multimodo, com dispositivo de alívio de pressão durante a decomposição e (b) manuseio e fixação dos frascos de maneira individualizada (Milestone, modelo *Ethos Up*). Reproduzida com permissão da Milestone Srl.

Outro sistema, recentemente disponibilizado comercialmente, combina algumas características dos sistemas de aquecimento com aplicação da radiação micro-ondas em monomodo e multimodo (Anton Paar, modelo *Multiwave Go* com sistema DMC, *Directed Multimode Cavity*) em um modelo compacto e com um rotor relativamente leve, de 5 kg (Figura 10.14). Esse sistema opera com frascos de PTFE-TFM e pode ser operado com apenas um frasco (sem a necessidade de balan-

ceamento do rotor com os demais frascos). Assim, as micro-ondas são direcionadas para um frasco como se fosse um sistema monomodo e, como em um sistema multimodo, até 12 amostras podem ser decompostas simultaneamente. O sistema usa apenas um magnetron e, de maneira similar a outros sistemas comerciais, permite a despressurização controlada em cada frasco durante o aquecimento. Possui, também, um sistema de resfriamento rápido, permitindo a diminuição da temperatura de 180 para 70 °C em menos de 8 min.

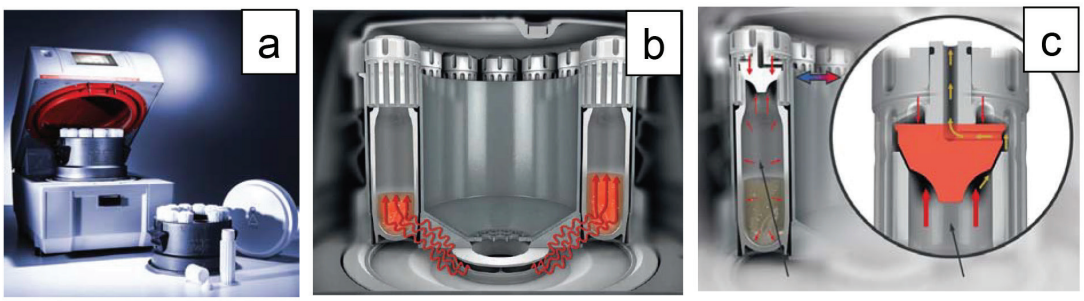

Figura 10.14. (a) Sistema para decomposição com radiação micro-ondas em cavidade com (b) dispositivo multimodo direcionado e (c) sistema de alívio de pressão durante a decomposição (Anton Paar GmbH, modelo *Multiwave Go* com sistema DMC - *Directed Multimode Cavity*). Reproduzida com permissão.

10.3.3. Recipientes para decomposição

Os frascos empregados para a decomposição assistida por radiação micro-ondas devem ser transparentes às mesmas, de tal forma que a radiação seja absorvida apenas pela solução do meio reacional. Os materiais mais empregados são o PTFE, PFA e TFM®. Os materiais mais usados são o PFA e TFM® por apresentarem melhor desempenho que o PTFE. A deformação mecânica dos frascos de decomposição de PTFE é considerada desprezível, quando são utilizadas temperaturas menores que 240 °C. Acima desse valor a deformação aumenta com a temperatura, tornando mais difícil manter os frascos vedados. Outro aspecto que levou ao desenvolvimento do PFA e do TFM® consiste no fato do PTFE ser um material relativamente poroso. Dependendo da fabricação, a porosidade pode ser mínima, mas pode ocorrer a migração de vapores através do mesmo. Além disso, há riscos de perdas por adsorção e contaminação. A temperatura de fusão do PFA situa-se entre 300 e 310 °C, sendo que a estabilidade térmica do PFA limita o seu uso para condições em que a temperatura, normalmente, não ultrapasse 260 °C.

A temperatura de fusão do TFM® situa-se entre 320 e 340 °C e a máxima temperatura operacional é de 300 °C. O TFM® é recomendado pelos fabricantes dos fornos mais modernos, quando se pretende trabalhar com temperaturas mais altas, mas não é recomendável exposição muito longa (>20 min) a essa temperatura. Mesmo assim, convém salientar que, como a vida útil do revestimento interno diminui com o emprego de temperaturas elevadas, recomenda-se não ultrapassar 260 °C. Para contornar essa limitação, há fornos de radiação micro-ondas que empregam frascos de quartzo que permitem o uso de condições mais drásticas de temperatura e pressão. Nesse caso, é possível atingir pressões e temperaturas de até 80 bar e 280 °C, respectivamente, em operação de rotina (os frascos suportam pressão máxima de até 120 bar). Com esse tipo de frasco, em geral, maior eficiência de decomposição é obtida, comparativamente aos frascos de PTFE ou TFM®. No entanto, cuidados devem ser observados em relação ao tipo de material digerido, que podem riscar e danificar as paredes dos frascos de quartzo (por exemplo, amostras de plantas com altos teores de sílica e solos).

De um modo geral, os frascos de decomposição para fornos de micro-ondas possuem volumes internos que variam de 25 a 120 mL, podendo ser equipados com sensores de pressão e temperatura, individuais ou coletivos, podendo ser de vários tipos:

- com circulação de ar (Figuras 10.15 e 10.16)
- com válvula de alívio (Figuras 10.17 e 10.18).
- com membrana de ruptura (Figura 10.19)

Uma maneira geral de classificar os frascos de decomposição se baseia na possibilidade ou não do alívio de pressão excedente durante o ciclo de aquecimento. Um frasco com membrana de ruptura (*non-reclosing type*) permanece aberto após a ruptura da membrana. Nesse caso, a tampa do frasco possui uma membrana que rompe imediatamente quando a pressão excede um determinado limite. A principal desvantagem desse sistema consiste no fato de que a membrana sofre desgaste sucessivo, devendo ser substituída periodicamente. Outra alternativa são os frascos com abertura momentânea da válvula (*reclosing type*), que permitem o alívio da pressão excedente sem que seja preciso interromper por completo o ciclo de aquecimento. Em ambos os casos, o alívio de pressão tem como finalidade evitar que danos de maior proporção possam atingir os frascos, rotor e cavidade, como no caso de uma explosão.

Esse tipo de artifício garante a operacionalidade do sistema com maior segurança. Esses modelos de frascos representam três gerações de desenvolvimentos sucessivos na

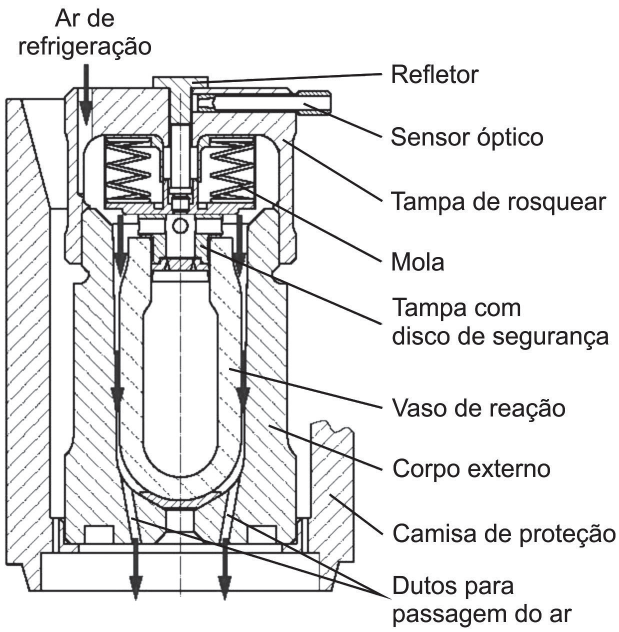

Figura 10.15. Corte transversal de um frasco de decomposição com vaso de reação refrigerado a ar modelo PMD. Reproduzida com permissão da Anton Paar GmbH.

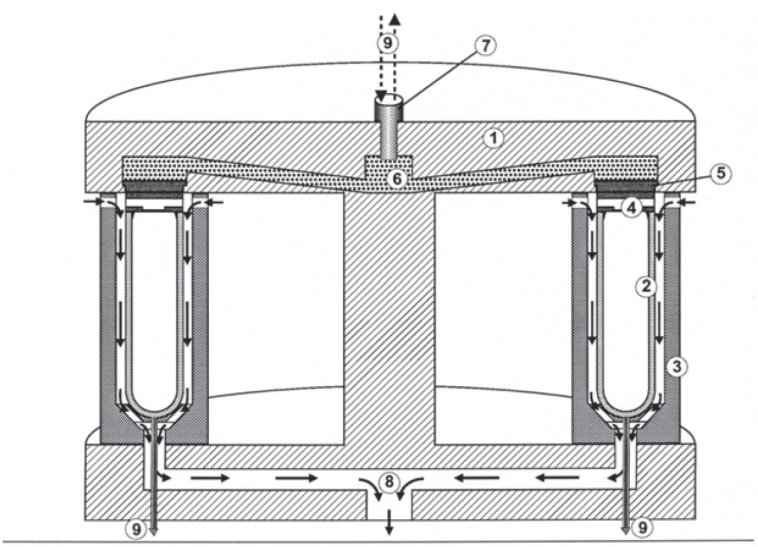

Figura 10.16. Corte transversal de rotor de forno de micro-ondas com refrigeração a ar e sistema de segurança do tipo pistão: 1 = rotor; 2 = frasco de decomposição; 3 = copo externo de proteção; 4 = tampa de PTFE; 5 = pistão; 6 = óleo de silicone; 7 = transdutor de pressão; 8 = ar frio; 9 = transmissor de infravermelho para dados de pressão e temperatura (Multiwave 3000®). Reproduzida com permissão da Anton Paar GmbH.

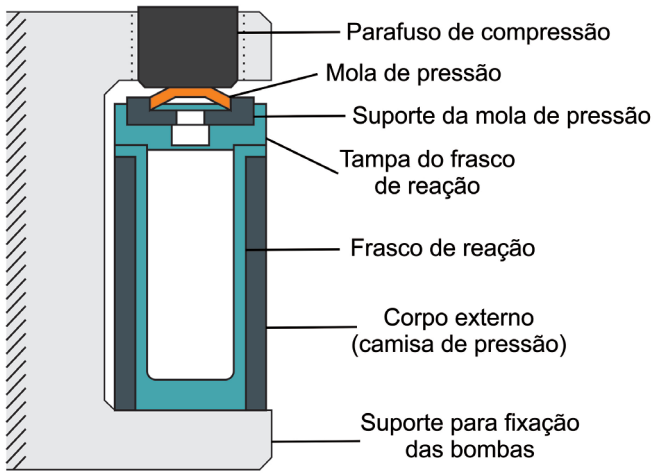

Figura 10.17. Frasco de decomposição com sistema de alívio. Reproduzida com permissão da Milestone Srl.

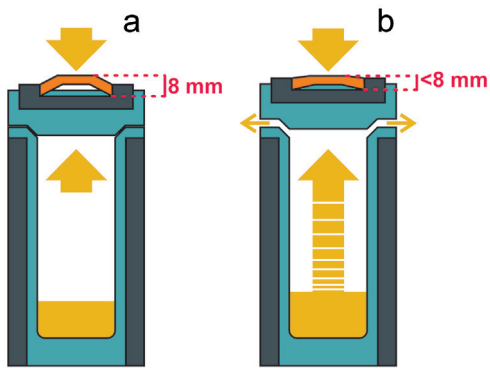

Figura 10.18. Ilustração da abertura de sistema de alívio quando a pressão interna excede a pressão tolerada pelo sistema: (a) tampa fechada, (b) tampa aberta. Reproduzida com permissão da Milestone Srl.

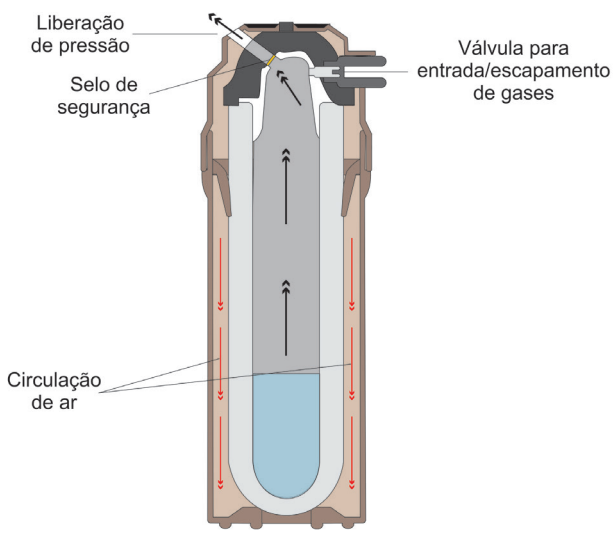

Figura 10.19. Frasco de digestão com membrana de ruptura. Reproduzida com permissão da Anton Paar GmbH.

área. Os frascos e demais dispositivos de segurança são as principais diferenças entre um forno de radiação micro-ondas para laboratório e aqueles para uso doméstico.

O uso de recipientes fechados no aquecimento assistido por radiação micro-ondas tem sido recomendado nos casos em que é preciso aumentar a temperatura para a completa decomposição da matriz e, principalmente, quando se pretende determinar componentes voláteis. Em geral, as vantagens preconizadas para decomposições assistidas por radiação micro-ondas em frascos fechados são semelhantes àquelas mencionadas para os sistemas fechados de alta pressão com aquecimento condutivo (bombas de decomposição), quando comparados aos sistemas abertos:

a) Maior eficiência na decomposição devido ao uso de temperaturas superiores às temperaturas de ebulição dos ácidos;
b) Risco reduzido de perdas de analitos por volatilização;
c) Risco reduzido de contaminações devidas ao ambiente de trabalho;
d) Menor consumo de reagentes.

Entre as desvantagens inerentes aos sistemas fechados encontra-se a limitação para digerir massas de amostra tão elevadas quanto em sistemas abertos. A pressão interna que se desenvolve dentro do frasco depende da pressão de vapor do ácido empregado e da pressão resultante dos produtos gasosos gerados nas reações de decomposição. No caso de materiais orgânicos, sabe-se que o CO_2 é o principal produto gasoso gerado, com pressão parcial proporcional à massa de carbono na amostra. Por exemplo, se as decomposições forem feitas com 10 mL de HNO_3 em recipiente de 100 mL a 250 °C, recomenda-se, no máximo, 250 mg de fígado bovino, estimando-se uma pressão interna no frasco de 60 bar. Deve-se lembrar que pressões muito elevadas poderão ser observadas, utilizando-se somente ácido ou mesmo água dentro do frasco fechado, porque as pressões de vapor do ácido ou da água aumentam consideravelmente com a temperatura (Capítulo 9). Por exemplo, a pressão desenvolvida por 10 mL de HCl 36% em frasco fechado de 23 mL a 223 °C é de, aproximadamente, 97 bar ou 1430 psi (psi = libras por polegada ao quadrado). Temperaturas mais elevadas poderão ser empregadas, diluindo-se ou diminuindo-se a quantidade de ácido.

Outra limitação refere-se à impossibilidade da decomposição de amostras com características diferentes em um mesmo ciclo de aquecimento, porque muitos equipamentos permitem o monitoramento indireto da decomposição em todos os

frascos, utilizando-se apenas um frasco de referência com sensores de temperatura e/ou de pressão. Essa limitação pode ser contornada com a utilização de sistemas com câmara única de reação (tipo autoclave aquecida por radiação micro-ondas), o qual será discutido posteriormente.

Historicamente, uma das maiores preocupações quanto aos recipientes fechados residia na qualidade dos materiais utilizados na fabricação dos frascos de decomposição, de tal forma que pudessem suportar elevadas pressões. Os primeiros frascos comerciais eram feitos inteiramente de PTFE, que suportavam, no máximo, 7 bar de pressão; alguns fabricantes consideravam 20 bar como "alta pressão". Gradativamente, os frascos de decomposição foram reprojetados e, atualmente, possuem um corpo externo feito com material também transparente à radiação micro-ondas e de altíssima resistência mecânica, podendo suportar pressões de até 150 bar. Do ponto de vista operacional, utilizam-se pressões menores que 150 bar. Os frascos de reação de PFA ou TFM® possuem paredes relativamente finas e se ajustam no interior deste corpo externo.

Como são comuns as situações nas quais as decomposições geram pressões de trabalho menores que 20 bar, há fabricantes que oferecem mais de um tipo de frasco de decomposição, em geral denominados frascos para "média pressão" e "alta pressão".

Para fins analíticos, a escolha do melhor forno de radiação micro-ondas deve levar em conta os frascos de decomposição oferecidos (desenho, capacidade, durabilidade e custo), os sensores de temperatura e de pressão (custo, durabilidade e tempo de resposta), os programas para o controle do equipamento e aquisição de dados e a opção de monitoramento remoto.

Geralmente, os equipamentos atuais são equipados com sensores de pressão e de temperatura que garantem a segurança operacional em sistemas fechados. A temperatura e a pressão máximas durante o aquecimento são limitadas pela reação envolvida, massa de amostra, reagentes, dimensões do frasco e programa de aquecimento. Por isso, os equipamentos são equipados com dispositivos eletrônicos que correlacionam a potência irradiada com os dados de pressão e temperatura. Dessa forma, mesmo que o operador selecione um programa de aquecimento que seja capaz de gerar valores de pressão e temperatura que excedam os valores máximos permitidos, o controle instrumental da taxa de aquecimento identifica esse aumento abrupto e reduz automaticamente a potência de micro-ondas irradiada.

A representação gráfica dos dados de pressão e temperatura *versus* potência de micro-ondas irradiada é mostrada na Figura 10.20. Usualmente, os equipamentos comerciais utilizados em laboratórios permitem o monitoramento desse tipo de informação durante todo o ciclo de aquecimento.

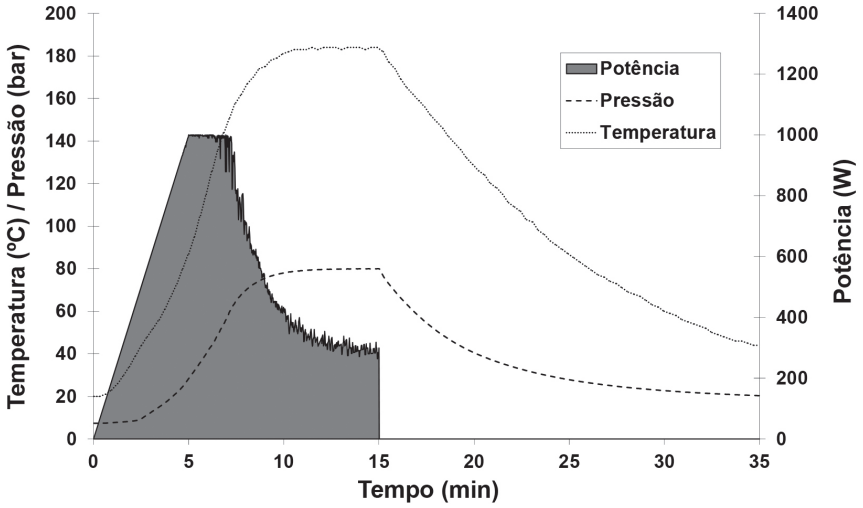

Figura 10.20. Dados de potência, pressão e temperatura extraídos durante um ciclo de aquecimento para decomposição de 500 mg de leite em pó integral com adição de 6 mL de 14 mol L^{-1} HNO_3. Programa de aquecimento: (*i*) 1000 W por 10 min (rampa de 5 min.); (*ii*) 0 W por 20 min.

10.3.4. Sistemas de decomposição com câmara única de reação assistidos por radiação micro-ondas

Sistemas fechados de decomposição aquecidos por radiação micro-ondas com câmara única de reação (SRC, *single reaction chamber*) foram inicialmente propostos pela Milestone (modelos UltraWAVE® e UltraCLAVE®) e, mais recentemente, pela Anton Paar (Multiwave 7000®). Os frascos com as amostras e reagente(s) são introduzidos automaticamente na câmara única de reação, previamente abastecida com uma solução levemente ácida (e.g. 130 mL de água + 5 mL de HNO_3 concentrado no UltraWAVE) e, então, a câmara é fechada, pressurizada com um gás inerte (N_2 ou Ar) e aquecida com radiação micro-ondas (Figura 10.21). Nesses sistemas, a câmara de reação atua como cavidade para a radiação micro-ondas, onde é introduzido um conjunto com frascos de vidro, de quartzo ou de TFM com tampas de PTFE.[17,27] A pressurização da câmara de reação (usualmente com 40 bar de N_2) possibilita realizar decomposições com pressões e temperaturas de

199 bar e 300 ºC, respectivamente. Isso previne a projeção da mistura reacional e riscos de contaminação cruzada. Durante a irradiação e após a decomposição, a câmara é refrigerada com água e a exaustão permanece acionada para a completa remoção dos vapores eventualmente gerados no interior do sistema. O arrefecimento também é recomendado durante a decomposição, diminuindo a temperatura exterior da câmara. O volume da câmara de reação pode ser de 1,0 L (UltraWAVE e Multiwave 7000) ou 4,1 L (UltraCLAVE). Dependendo do tamanho da câmara, podem ser decompostas, simultaneamente, até 77 amostras por ciclo (por exemplo, com frascos de 10 mL no UltraCLAVE). É possível decompor massas de amostras mais elevadas, comparando-se com outros sistemas de decomposição que operam com frascos fechados. Além disso, é importante mencionar que, diferentemente de outros sistemas e sob as condições mencionadas, é possível digerir eficientemente e de maneira segura amostras com características químicas bastante distintas, empregando-se um mesmo programa de aquecimento.[17,27,28]

No caso do UltraWAVE, que possibilita a operação com 4, 5, 8, 15, 19, 22 e até 26 frascos, dependendo do número e do volume dos frascos, podem-se digerir massas mais elevadas de amostras (por exemplo, porções amostradas de até 5 g quando se utilizam 4 frascos simultaneamente). A pressurização da SRC permite trabalhar com frascos sem tampas especiais, o que facilita acentuadamente as etapas de manipulação das amostras, possibilitando, inclusive, a aplicação do conceito de procedimento de digestão em frasco único, que evita transferências dos digeridos e, dessa forma, possibilita um controle mais efetivo do branco e um aumento da frequência analítica. Conforme apresentado na Figura 10.21d, a sequência de operação do UltraWAVE é mecanizada e envolve reduzida participação do operador.

O Multiwave 7000 possibilita a operação com 5, 6, 9, 18 e até 24 frascos, onde até 4 g de amostra podem ser digeridas quando forem utilizados 5 frascos. Além dos frascos com as tampas de PTFE-TFM, estão disponíveis frascos selados com tampas de quartzo (pressão inicial de 65 bar), que permitem a utilização de qualquer ácido ou mistura ácida para a digestão. Este equipamento possui, ainda, sistema de agitação com barras magnéticas, que facilita a homogeneização.

Esta tecnologia que incorpora o conceito de câmara única de reação e tem sido usada para a decomposição de uma variedade de amostras como insumos farmacêuticos, [29] polímeros,[30] petróleo[31] e alimentos.[28,32] Massas de 500 mg a 1000 mg foram eficientemente decompostas usando HNO_3 concentrado ou somente H_2O_2.

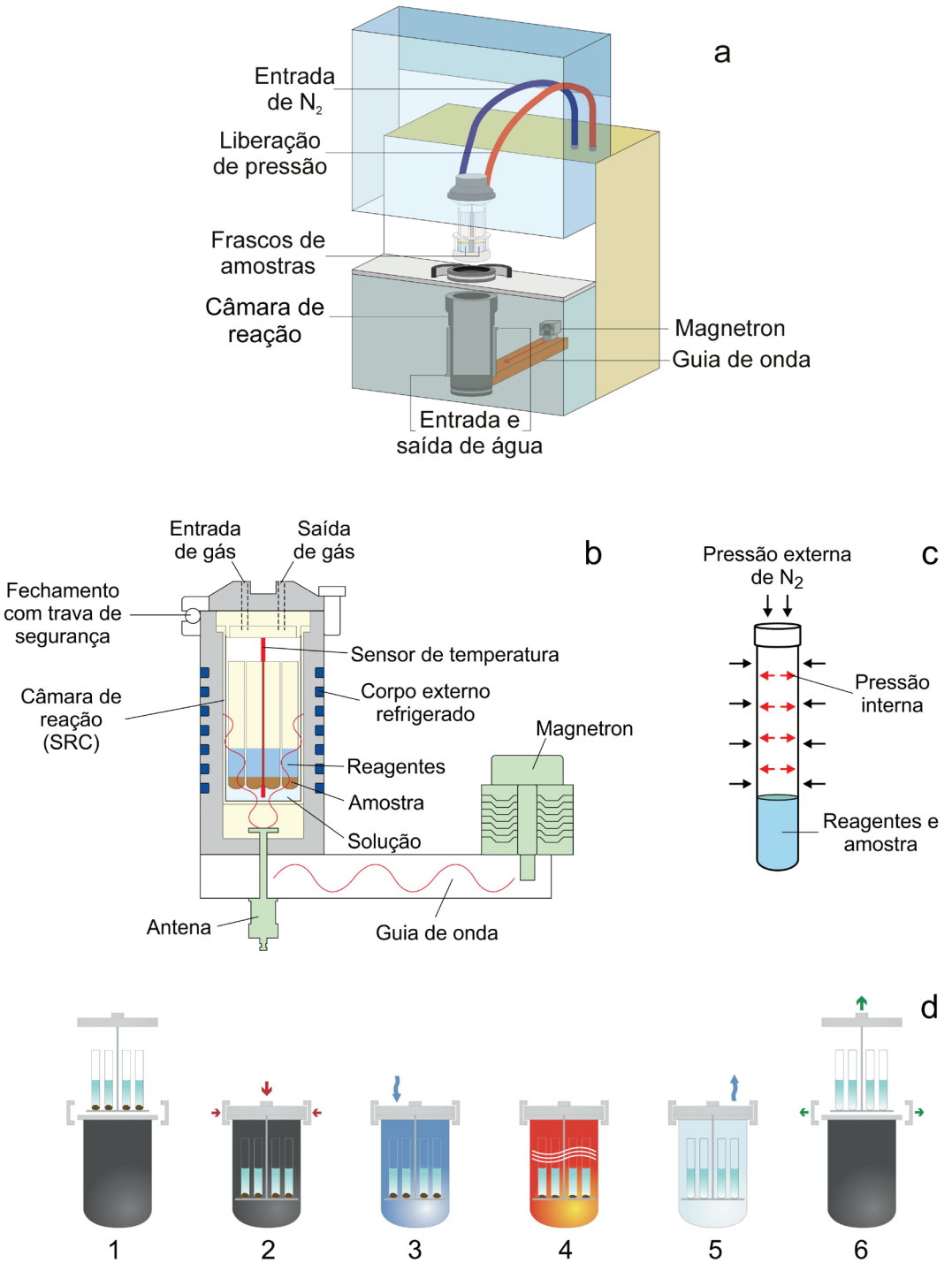

Figura 10.21. (a) Sistema com câmara única de reação e aquecimento assistido por radiação micro-ondas, (b) corte esquemático do *UltraWAVE*, (c) detalhe do frasco e do equilíbrio de pressão, (d) sequência operacional: 1-Introdução dos frascos na câmara única de reação; 2-fechamento; 3-pressurização; 4-irradiação; 5-despressurização; 6-retirada dos frascos. Reproduzida com permissão da Milestone Srl.

10.3.5. Sistemas de decomposição com radiação micro-ondas focalizadas (monomodo)

Em sistemas com frascos pressurizados é possível a decomposição utilizando-se somente ácido nítrico, principalmente para as amostras orgânicas, com a possibilidade de se usar até 48 frascos de decomposição simultaneamente. Não obstante, uma das maiores desvantagens dos sistemas fechados é a limitação associada à massa das amostras. Outra desvantagem dos frascos fechados de decomposição é a geração de H_2 quando ligas metálicas e metais são dissolvidos com ácidos. Nesse caso, além de provocar um aumento na pressão interna do frasco, o hidrogênio pode aumentar o risco de explosão. Além disso, no caso de frascos fechados, existe a necessidade de resfriamento e despressurização dos frascos para a adição de reagentes durante o ciclo de aquecimento.

Sistemas de decomposição de amostras que empregam radiação micro-ondas focalizadas possibilitam um grande número de aplicações. As decomposições são feitas com frascos sob pressão atmosférica, com a utilização de condensadores resfriados a ar ou água. Esses frascos têm a forma de um tubo com 30 a 40 cm de altura e 2 a 4 cm de diâmetro. Os frascos são fabricados em quartzo, vidro borossilicato ou PTFE, com capacidade para 50, 100 ou 250 mL. Normalmente, esses frascos recebem a denominação de "abertos". Na realidade, este tipo de frasco possui um condensador, com entrada para a adição de reagentes, adaptado à extremidade superior, de forma a restringir a contaminação pelo ar externo. Esse sistema proporciona o refluxo do(s) vapor(es) do(s) solvente e do(s) ácido(s), de modo a aproveitar ao máximo a capacidade de decomposição e minimizar as perdas de reagentes. As operações são realizadas com segurança nos equipamentos modernos, tomando-se as precauções recomendadas pelos fabricantes.

No primeiro equipamento com micro-ondas focalizadas, projetado em 1986, um único frasco de decomposição era colocado diretamente no guia de ondas, logo após o magnetron, de tal forma que somente a região do frasco onde a amostra era colocada ficasse exposta à irradiação. Segundo diversos autores, a região para condensação e refluxo seria a razão para evitar ou minimizar as perdas por volatilização, apesar desse aspecto ainda ser controverso na literatura. Entretanto, há trabalhos que demonstraram recuperações totais de Hg,[33] As,[34] e Pb, Cd, Cu e Zn.[35]

Sistemas de condensação de vapores resfriados por circulação de ar ou água (chamados de condensadores ou dedos-frios) podem ser adaptados na parte superior dos frascos de digestão em sistemas abertos com aquecimento condutivo convencional, de modo a evitar a perda de reagentes ou analitos voláteis. Contudo, apesar desses dispositivos minimizarem as perdas de ácidos, o uso de condensadores não altera a eficiência de digestão, pois a temperatura de ebulição dos ácidos não é afetada pelos mesmos, quando o aquecimento é realizado em sistemas convencionais, como bloco digestores.[36] Por outro lado, em sistemas de decomposição com radiação focalizada há o efeito de superaquecimento (*superheating*). Nesse caso, os ácidos atingem temperaturas ligeiramente superiores ao ponto de ebulição, podendo afetar a eficiência de decomposição.

Sistemas com radiação micro-ondas focalizadas (monomodo) oferecem a possibilidade de se trabalhar, simultaneamente, com mais de um frasco de decomposição com um único guia de ondas. A Figura 10.22 mostra uma representação de dois sistemas, um com tubo único de decomposição e outro com dois tubos de decomposição. Há, no mercado, um sistema comercial que possui controle de temperatura em cada um dos tubos e a capacidade para processar amostras com diferentes programas de decomposição, incluindo adição automática de reagente(s), útil para várias aplicações. Também, pode-se utilizar um magnetron independente por tubo ou, ainda, efetuar a decomposição sequencialmente, com frascos posicionados em um carrossel contendo as amostras de diferentes composições químicas, passando um tubo de cada vez pelo guia de ondas. Como os tubos são abertos, com entrada para diferentes reagentes, é possível fazer um programa de decomposição diferente e totalmente independente para cada amostra (Figura 10.23).

A potência do forno micro-ondas com radiação focalizada varia de 200 a 300 W para cada frasco de decomposição. É importante lembrar que a radiação micro-ondas está confinada em um guia de ondas com dimensões reduzidas (*ca.* 109 x 54 mm ou 86 x 43 mm) em conformidade com a IEC (*International Electrotechnical Commission*). Nesse caso, mesmo que se empreguem potências da ordem de 200 W, ocorrerá maior transferência de energia às amostras e, consequentemente, maior eficiência de aquecimento em comparação aos sistemas de decomposição por cavidade (multimodo), com dimensões aproximadas de 30 x 30 x 30 cm.[37] De acordo com o fabricante, um aumento de eficiência de até 10 vezes na interação

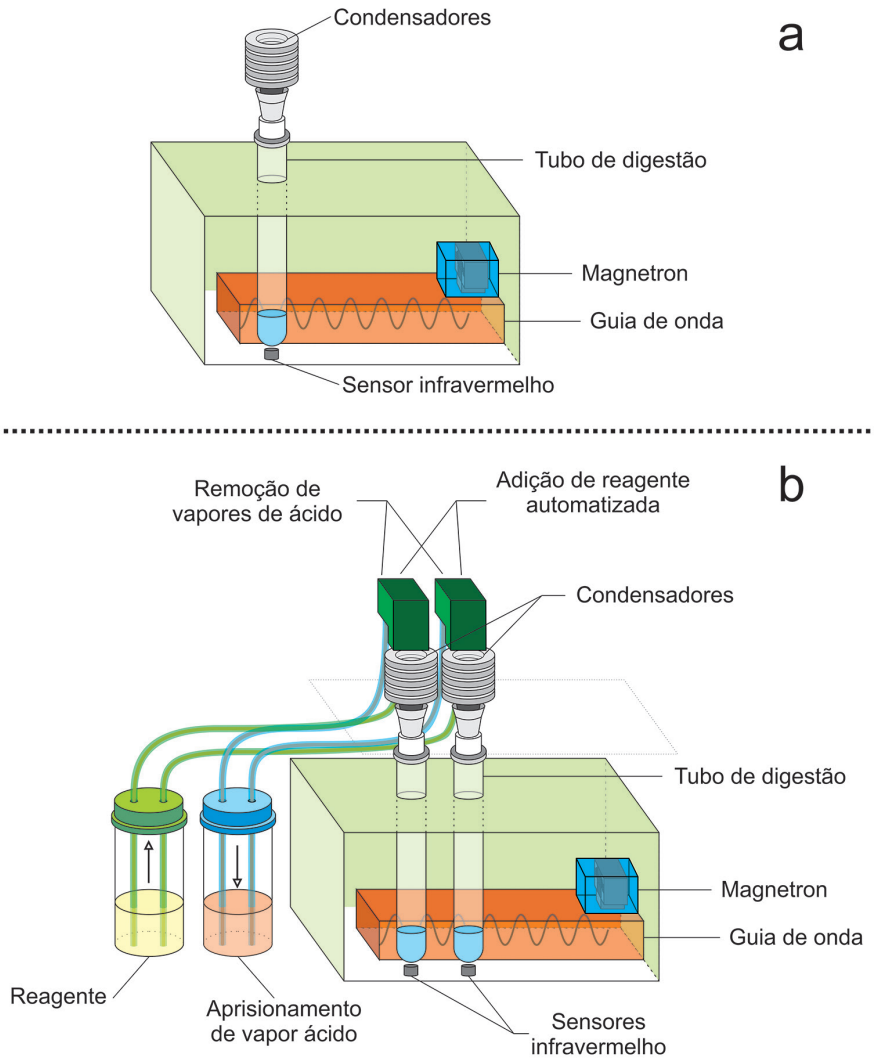

Figura 10.22. Representação de sistema de decomposição por via úmida "aberto" com aquecimento micro-ondas com radiação focalizada: (a) frasco posicionado no guia de ondas e (b) frascos posicionados lateralmente ao guia de ondas.

da amostra com a radiação micro-ondas pode ser obtido no sistema com radiação focalizada, quando comparado com os fornos com cavidade.

Decomposições realizadas nos fornos com radiação focalizada podem ser feitas com o emprego de H_2SO_4, cujo uso é limitado, além de perigoso, nos frascos de decomposição fechados, tendo em vista o elevado ponto de ebulição deste ácido (aproximadamente 340 °C).

Além de não apresentarem problemas associados ao aumento de pressão, da possibilidade de utilização de até 10 g de amostra e da adição de reagentes em

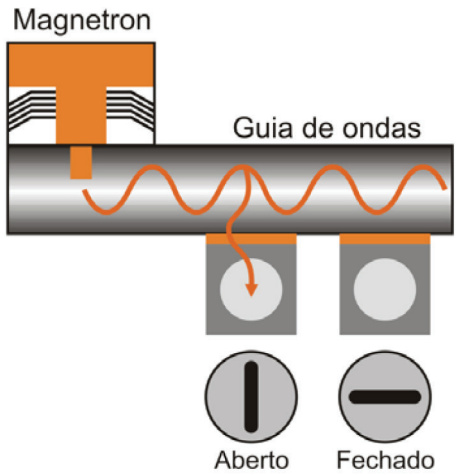

Figura 10.23. Esquema da distribuição de micro-ondas com radiação focalizada para digestões em dois tubos independentes (vista de topo) em equipamento com um único magnetron. Adaptada de CEM *Star Technology*.[38]

qualquer estágio do processo de decomposição, os sistemas de decomposição assistidos por micro-ondas com radiação focalizada também apresentam a possibilidade de se levar uma mistura reagente até a secura, de forma rápida e eficiente. Isso é de particular interesse para a remoção de HF (atentar para o uso de frasco adequado) após a decomposição de amostras geológicas. Ainda, a evaporação dos reagentes pode ser importante para reduzir a acidez final dos digeridos e evitar problemas na etapa de determinação. Contudo, é necessário tomar cuidado com perdas dos analitos por volatilização. O monitoramento da temperatura é possível, bem como seu controle, podendo-se estabelecer programas pré-definidos, após a calibração do equipamento. Além disso, a incidência da radiação micro-ondas em baixas potências possibilita a aceleração da lixiviação de compostos organometálicos, sem afetar a ligação metal-carbono ou, ainda, a extração de compostos orgânicos.[37]

A principal dificuldade da decomposição empregando micro-ondas com radiação focalizada é a distribuição não uniforme da radiação entre todos os tubos, quando as decomposições são simultâneas, além da elevada concentração ácida das amostras após a decomposição.[39] O primeiro aspecto não é tão crítico, pois o controle da liberação da radiação micro-ondas para cada tubo de decomposição baseia-se na temperatura do frasco de reação, que é monitorada com sensor de infravermelho. Por outro lado, a concentração ácida é usualmente alta, especialmente quando se utilizam grandes volumes de ácido sulfúrico para aumentar a temperatura da mistura reagente. Esse problema pode ser contornado alterando-se a ope-

ração do sistema. Visando aumentar a aplicabilidade, diferentes estratégias foram propostas, como a decomposição ácida em fase vapor,[40-42] a decomposição com o uso de sistemas em fluxo[43] e a adição de amostras ao ácido pré-aquecido.[37,44,45] Essas estratégias serão discutidas com mais detalhes a seguir.

A decomposição em sistema aberto assistida por micro-ondas com radiação focalizada foi proposta, também, para a extração de alguns elementos e compostos organometálicos visando à especiação de Se em urina,[46] Sn em sedimentos,[47] Hg em peixes[48] e As em cogumelos comestíveis.[49] Outras aplicações encontradas na literatura referem-se à decomposição de amostras para determinação de Hg em cosméticos,[50] de Se em suplementos nutricionais e xampus[51] e de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn em cinzas de incineração.[52]

Alguns equipamentos como o "*Discover System*" (CEM Corporation, USA), originalmente desenvolvidos para síntese orgânica, podem também ser empregados para o preparo de amostras. O sistema de operação desse equipamento também se baseia no emprego da radiação focalizada diretamente na amostra selecionada e individualmente processada, mas que permite que as amostras sejam processadas sequencialmente, após cada ciclo do programa de aquecimento. As condições de reação são reprodutíveis e perfeitamente controladas, podendo-se operar com pressões de 25 atm. [16]

10.4. APLICAÇÕES E TENDÊNCIAS

A decomposição de amostras em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas tem se mostrado como um processo mais rápido, eficiente e seguro. Particularmente, o uso de recipientes fechados minimiza as possibilidades de contaminação e diminui o número e quantidade de reagentes necessários para converter a amostra em uma solução, tornando-a adequada para a determinação dos elementos de interesse.

Uma grande variedade de amostras, desde fluidos biológicos até materiais para catalisadores, passando por amostras de interesse geológico, metalúrgico, águas residuais, efluentes industriais, alimentos e polímeros, pode ser decomposta em sistemas assistidos por radiação micro-ondas. Em geral, diversos métodos são oferecidos pelos fabricantes desses sistemas. Entretanto, convém lembrar que os conhecimentos

sobre os fundamentos clássicos dos métodos de decomposição são decisivos para o sucesso das reações químicas assistidas por radiação micro-ondas (Capítulo 2).

A existência no mercado de vários fabricantes de fornos de micro-ondas, projetados especificamente para uso em laboratório, é uma indicação do sucesso desse tipo de aplicação. Os equipamentos vêm sendo constantemente aperfeiçoados, visando decomposições com eficiência, rapidez e segurança. Além dos equipamentos com 6 a 15 frascos, que trabalham sob altas pressões (100 bar), também existem alternativas para operar com até 48 frascos, geralmente de média pressão (30 bar), e que apresentam diferentes configurações e alternativas de segurança.

Outra opção são mini-frascos comercializados em PTFE (6 mL) e quartzo (3 mL) e que são inseridos em frascos de decomposição de 100 mL, aumentando o número de amostras simultaneamente processadas. Esses mini-frascos operam em temperaturas de até 240 °C, podendo atingir 30 bar de pressão. Além do aumento da frequência analítica, esses frascos são ideais para aplicações com quantidade de amostras limitadas, pois perdas são evitadas, além de se utilizar reduzido volume de reagentes, sendo que o fator de diluição também é otimizado. Esses acessórios são um bom atrativo para uso em análises de rotina, quando um grande número de amostras deve ser processado diariamente, tanto como alternativa aos blocos digestores com aquecimento convencional, como nos casos em que o volume necessário para todas as determinações for igualmente pequeno.

O sistema de decomposição por via úmida assistido por radiação micro-ondas em atmosfera de oxigênio foi recentemente proposto para a decomposição de amostras com altos teores de matéria orgânica. Esse procedimento baseia-se na regeneração do ácido nítrico por meio da oxidação dos seus produtos de decomposição na fase de vapor com a subsequente absorção na fase líquida. Dessa forma, ácido nítrico diluído (2 mol L^{-1}) pode ser empregado para a decomposição da matéria orgânica na presença de ar atmosférico, peróxido de hidrogênio ou gás oxigênio. As principais vantagens estão associadas ao aumento da eficiência de decomposição em sistema fechado e na redução da quantidade de reagentes químicos empregados na etapa de decomposição. Mais detalhes do mecanismo de regeneração e aplicações para diversos tipos de amostras serão posteriormente abordados.

Apesar das características positivas já apresentadas, a decomposição assistida por radiação micro-ondas em sistema fechado possui limitações, principalmente para amostras complexas com altos teores de matéria orgânica como, por exemplo, petró-

leo, coque e polímeros. Nesses casos, muito frequentemente o teor de carbono orgânico residual após a decomposição é superior a 15%, podendo provocar interferências e comprometer a exatidão dos resultados analíticos. Como alternativa, os métodos baseados na decomposição por via úmida assistidos por radiação micro-ondas combinado com radiação ultravioleta e a combustão iniciada por radiação micro-ondas têm sido utilizados para promover elevada eficiência de decomposição em amostras complexas. Mais detalhes com relação a esses métodos são apresentados nos Capítulos 11 e 12. A seguir, serão descritas diversas estratégias que vêm sendo desenvolvidas para solucionar algumas limitações dos sistemas de decomposição empregando radiação micro-ondas por via úmida, de forma a atender uma gama maior de aplicações para diversas matrizes.

10.4.1. Radiação micro-ondas focalizada em frascos fechados

Um sistema de decomposição com frascos fechados foi desenvolvido por Matusiewicz[53] empregando micro-ondas com radiação focalizada como fonte de aquecimento. O sistema é capaz de suportar temperaturas de até 300 °C e pressões de até 100 bar, o que é necessário para a completa destruição de diversos materiais orgânicos, utilizando-se apenas HNO_3, conforme estudos de Würfels *et al.*[54]. O desempenho desse sistema foi avaliado para a decomposição de amostras botânicas, biológicas e geológicas por Levine *et al.*[55]. O tempo necessário para a decomposição de amostras botânicas foi de cerca de 10 min, enquanto para amostras geológicas e biológicas foi de, aproximadamente, 15 min. Produtos orgânicos não-voláteis, normalmente presentes nas soluções decompostas por procedimentos convencionais, estão ausentes ou significativamente reduzidos quando esse sistema é empregado para a decomposição dessas matrizes.

Outra versão do sistema proposto por Matusiewicz[56] permite atingir temperaturas e pressões de até 320 °C e 130 bar e a decomposição de até seis amostras simultaneamente (Figura 10.24). Esse sistema foi utilizado para correlacionar o efeito da potência de radiação micro-ondas com a temperatura e a pressão em sistema fechado na decomposição de amostra biológica.[57] A única modificação em relação ao sistema anterior consistiu na inclusão de um sensor para indicar a potência refletida da radiação micro-ondas.

Em trabalho realizado em 1995, Légère e Salin[58] discutiram diversos procedimentos para a decomposição de amostras. Os autores propuseram um sistema de decomposição baseado no encapsulamento de amostras e na decomposição com

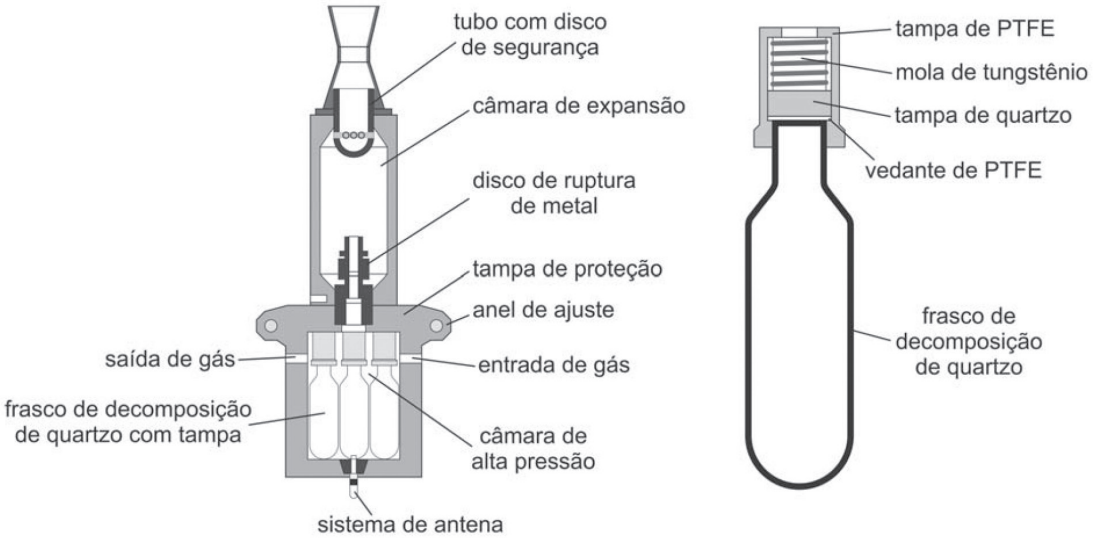

Figura 10.24. Sistema de decomposição com HNO_3 sob pressão a 320 °C com aquecimento por micro-ondas com radiação focalizada (HPA-FM) e frasco de decomposição de quartzo. Adaptada de Matusiewicz.[56]

radiação micro-ondas sob pressão. A cápsula de 2 mL, feita de poliacrilamida e contendo a amostra, foi colocada em um tubo de PTFE-PFA (9,5 mm d.i.) em forma de "U" com válvulas para fechamento nas extremidades, suportando até 200 °C. A remoção da amostra decomposta foi feita com uma haste flexível de PTFE (a mesma empregada para a colocação da cápsula). Como o diâmetro interno do tubo é relativamente grande, não se observou seccionamento da amostra, pois as bolhas saem da solução com facilidade.

10.4.2. Uso de mini-frascos

As condições ótimas para a decomposição de amostras em análise de traços foram estabelecidas há várias décadas. Dentre essas condições, podem ser citados o emprego de uma relação favorável entre a quantidade de amostra e a superfície do recipiente, a diminuição do volume e uso de reagentes que possam ser facilmente purificados, e o trabalho em ambientes com classes de limpeza apropriadas. Em trabalhos mais recentes, essas recomendações foram confirmadas e, atualmente, os métodos analíticos requerem: (*i*) o emprego de pequenas quantidades de reagentes (de alto grau de pureza); (*ii*) a relação entre a superfície do frasco e a da amostra deve ser a menor possível; (*iii*) materiais inertes devem ser empregados como re-

cipientes; (*iv*) a facilidade de processamento de grande número de amostras; e (*v*) a miniaturização. Além disso, o uso de sistemas fechados é preferido e, em alguns casos, a matriz orgânica deve ser completamente decomposta, exceto para análises de especiação química.

Se todas as etapas do procedimento analítico, desde a pesagem da amostra, fossem conduzidas no mesmo recipiente, os riscos de perdas e de contaminação seriam reduzidos ao mínimo. A coleta, a pesagem e a preservação da amostra poderiam ser feitas *in loco* e, do transporte ao laboratório até a análise final, os procedimentos poderiam ser feitos com facilidade, simplicidade e segurança.

De acordo com esses conceitos, Sperling[59] desenvolveu um procedimento para a decomposição de amostras ambientais e determinação de Cd por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS). A decomposição foi feita em frascos fechados de polipropileno (1,5 e 4 mL de capacidade), aquecidos a 70 °C por 12 h. O procedimento consistia na decomposição da amostra com mistura ácida (1 + 4 (v/v), H_2SO_4 + HNO_3) e aferição de volume no próprio frasco usado para a decomposição; a proporção da mistura ácida era de 50 µL para cada 5 mg de amostra. Segundo o autor, com esse procedimento foi possível o processamento de um grande número de amostras e limites de detecção adequados, já que a amostra não foi excessivamente diluída durante o procedimento. Campos[60] adaptou esse procedimento para a decomposição de amostras de vegetais e determinação de Cd, Cu e Pb por GFAAS: até 5 mg de amostra + 50 µL de mistura sulfonítrica (1 + 3 (v/v), H_2SO_4 + HNO_3) e aquecimento em estufa a 80 °C por 12 h. O autor observou boa concordância entre os valores encontrados e aqueles certificados para Cd, Cu e Pb em CRMs.

Com base nesses trabalhos, Flores[61] propôs a decomposição de amostras de erva-cidreira e fígado bovino empregando recipientes fechados de polipropileno (Figura 10.25) para as etapas de decomposição, diluição e de determinação (Cr e Cu por GFAAS e Se por HGAAS). A decomposição foi feita com 80 µL de ácido sulfúrico + 150 µL de ácido nítrico concentrados, com aquecimento em estufa ou em forno de micro-ondas doméstico, com prévia calibração da potência. A concordância entre os resultados encontrados e os valores certificados de materiais de referência variou de 86 a 98% para todos os elementos, empregando-se a decomposição em estufa. Com aquecimento promovido por radiação micro-ondas, as concordâncias variaram entre 95 e 98% para Cr e Cu, respectivamente. Para Se, com aquecimento por radiação micro-ondas, a concordância foi de 57% para fígado

bovino e 82% para farinha de arroz. Nesse caso, empregou-se o princípio do "*frasco único*" durante, praticamente, todo o procedimento.

Posteriormente, Flores *et al.*[62] desenvolveram um procedimento para a determinação de As em cabelo empregando, também, uma estufa convencional e um forno de radiação micro-ondas doméstico para a decomposição em frascos de polipropileno fechados. A determinação de As em amostras biológicas por HGAAS é sujeita a problemas devido à dificuldade de decomposição de espécies orgânicas contendo As, que não são detectadas pelos sistemas convencionais. Para isso, agentes oxidantes fortes, aliados a sistemas pressurizados, precisam ser empregados. Demonstrou-se que procedimento foi apropriado para a decomposição de um grande número de amostras, de maneira simples e com menor consumo de reagentes (da ordem de μL), mínima diluição, com eficiência comparável a de outros procedimentos descritos na literatura. Além disso, a facilidade de manuseio, o custo relativamente baixo e o fato de serem descartáveis tornam seu emprego atraente para análises de rotina. As possibilidades de contaminação também são minimizadas, pois os frascos só são abertos para diluição e para a análise das soluções.

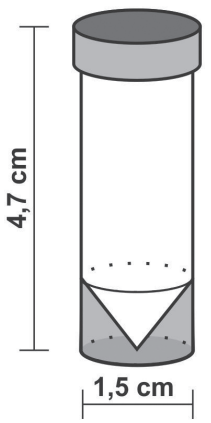

Figura 10.25. Minifrasco de polipropileno para decomposição de amostras biológicas.[61,62]

10.4.3. Emprego de ácidos diluídos para o preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas em sistema fechado

A maioria dos métodos de decomposição, que se baseiam na utilização de agentes oxidantes, foi desenvolvida durante o século XIX.[63,64] Geralmente, esses métodos fazem uso de grandes quantidades de ácidos concentrados, uma característica possível-

mente herdada de procedimentos alquímicos.[65] Não obstante, como tem sido mostrado nesse livro, os métodos vêm sendo continuamente aprimorados, e, nessa seção, são descritos os desenvolvimentos que empregam menores quantidades de reagentes,[66,67] aliando segurança, rapidez e eficiência.[65] Em parte, isso foi possível face aos avanços tecnológicos da instrumentação desenvolvida para decomposição de amostras, possibilitando a operação com segurança sob condições extremas de temperatura e pressão.[64,68]

O uso de ácidos concentrados, apesar de necessário em muitas aplicações, sempre requer precauções para que a manipulação seja feita com segurança. Após a decomposição, geralmente é necessária uma etapa de diluição para que a determinação do(s) analito(s) seja possível; além do maior consumo de reagentes, são gerados grandes volumes de resíduo ácido em desacordo com os princípios da química verde, e os custos analíticos podem se tornar altos.[69,70]

Assim, soluções diluídas de HNO_3 vêm sendo utilizadas para decomposição de amostras orgânicas e, apesar de apresentarem menor poder oxidante, não comprometem a eficiência de decomposição.[69-72] Tal possibilidade é dependente de uma série de reações que ocorrem durante a oxidação da matéria orgânica, as quais resultam na regeneração *in situ* do HNO_3, como representado na Figura 10.26. Essas reações dependem da presença de O_2 na atmosfera interna do frasco de reação e do gradiente de temperatura ao longo do frasco reacional.[3,71,73] Esses fatores com-

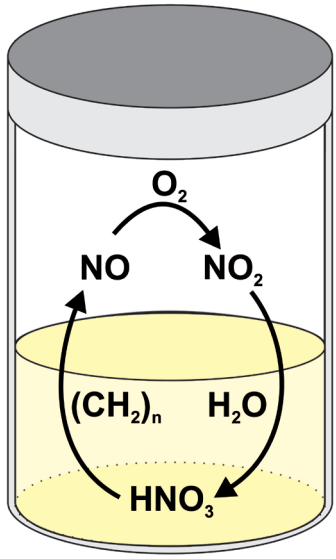

Figura 10.26. Representação de um frasco fechado com as reações de regeneração do HNO_3 na presença de O_2. Somente as espécies diretamente relacionadas com a regeneração do HNO_3 foram evidenciadas; $(CH_2)_n$ representa o material orgânico.

binados possibilitam a regeneração do ácido e, consequentemente, a manutenção da eficiência de decomposição quando soluções diluídas são utilizadas.

As reações que resultam na regeneração do HNO_3 e, dessa forma, na possibilidade de utilização de menores quantidades desse reagente, são apresentadas nas Equações de 2 a 5. Com base nessas reações é possível planejar estratégias que permitam aumentar a extensão da oxidação da matéria orgânica, mesmo com a utilização de reagentes cada vez mais diluídos.

$$(CH_2)_n + 2HNO_{3\,(aq)} \rightarrow CO_{2\,(g)} + 2NO_{\,(g)} + 2H_2O_{\,(l)} \quad \textbf{(2)}$$

$$2NO_{\,(g)} + O_{2\,(g)} \rightarrow 2NO_{2\,(g)} \quad \textbf{(3)}$$

$$2NO_{2\,(g)} + H_2O_{\,(l)} \rightarrow HNO_{3\,(aq)} + HNO_{2\,(aq)} \quad \textbf{(4)}$$

$$2HNO_{2\,(aq)} \rightarrow H_2O_{\,(l)} + NO_{2\,(g)} + NO_{\,(g)} \quad \textbf{(5)}$$

Após o início da oxidação da matéria orgânica, a regeneração do HNO_3 promove um novo ciclo reacional, que permanece efetivo enquanto duas condições forem simultaneamente obedecidas:[74,75] (*i*) a existência de material orgânico passível de oxidação da amostra que está sendo decomposta, resultando na geração de NO(g) (Equação 2); e, (*ii*) presença de gás oxigênio no frasco reacional para aumentar a formação de NO_2 (Equação 3). Consequentemente, o NO_2 formado pela oxidação do NO é absorvido na solução. Então, um processo de desproporcionamento resulta na formação de HNO_3 e HNO_2 (Equação 4). O HNO_2 formado se decompõe em NO_2 e NO (Equação 5), enquanto HNO_3 reiniciará o ciclo de oxidação da matéria orgânica, conforme descrito na Equação 2.[70-72] Com base nesse pressuposto, a regeneração do HNO_3 pode ser intensificada quando quantidade suficiente de O_2 estiver presente na fase gasosa do frasco reacional, enquanto houver material orgânico a ser digerido.

A fonte de O_2 mais simples e barata é o ar atmosférico, o qual contém aproximadamente 21% (v/v)[6] de oxigênio. Com base nessa perspectiva, a regeneração do HNO_3 pode ocorrer em qualquer sistema fechado,[69,71,72] desde que atmosfera inerte não seja utilizada.[76] A limitação passa a ser a quantidade de O_2 disponível, a qual depende do tamanho do frasco reacional e do volume da fase gasosa.[76] Dessa forma, amparados na compreensão do mecanismo de regeneração do HNO_3, bem como pelo avanço instrumental, estratégias para intensificar a reação de regeneração do HNO_3 tornaram-se possíveis, como a pressurização dos frascos reacionais com O_2 e a utilização de H_2O_2 como reagente auxiliar.[77,78]

Em trabalhos pioneiros fez-se a avaliação de sistemas pressurizados com O_2 (até 20 bar) para possibilitar a utilização de soluções diluídas de HNO_3 e alguns estudos selecionados são apresentados na Tabela 10.5. Como resultado, até 500 mg de material biológico (leite em pó integral, leite em pó desnatado, proteína de leite, fígado bovino e músculo bovino)[77,79] ou botânico (folhas de pessegueiro, folhas de oliveira, orégano e acículas de pinheiro)[80] foram digeridos com soluções diluídas de HNO_3 (2 a 3 mol L^{-1}, respectivamente). Deve-se ressaltar que nas mesmas condições reacionais, porém sem pressurização com O_2, a mínima concentração de HNO_3 que permitiu uma digestão eficiente foi de 7 mol L^{-1}.[77,79,80]

Cabe aqui mencionar que a modificação da fase gasosa do meio reacional depende do tipo de frasco utilizado. Esse inconveniente acaba sendo uma limitação prática[76] pois, como nem todo sistema de decomposição permite a etapa de pressurização, essa possibilidade fica limitada à instrumentação disponível. Não obstante, como fonte alternativa de O_2 pode-se utilizar o H_2O_2, como apresentado na Equação 6.[81] Apesar de apresentar algumas desvantagens, principalmente relacionadas a sua pureza para alguns elementos, o H_2O_2 apresenta vantagens quando comparado ao O_2. A mais notável é a facilidade de manipulação e possibilidade de utilização em qualquer sistema de decomposição, permitindo a utilização de soluções diluídas de HNO_3, mesmo em sistemas que não foram especificamente desenhados para permitir etapa de pressurização. Além disso, o H_2O_2 é um reagente de grande disponibilidade, frequentemente associado ao uso de HNO_3 em procedimentos de digestão[64,69,82], e sua decomposição resulta em água e O_2, produtos que não interferem nos métodos de determinação.

$$2\ H_2O_{2\ (aq)} \rightleftharpoons 2\ H_2O_{\ (l)} + O_{2\ (g)} \qquad \textbf{(6)}$$

Além de atuar como fonte de O_2, o H_2O_2 possui outras vantagens que contribuem para manutenção da eficiência de decomposição, quando soluções diluídas de HNO_3 são utilizadas (Figura 10.27). O H_2O_2 atua como oxidante da matéria orgânica, contribuindo para melhorar a eficiência de decomposição.[32,64,83] Além disso, o HNO_2, oriundo do desproporcionamento do NO_2 ao ser solubilizado (Equação 4), pode ser oxidado a HNO_3 na presença de H_2O_2[7,84,85] contribuindo para a manutenção da concentração do HNO_3 e possibilitando o uso de soluções mais diluídas de HNO_3 para decomposição de amostras.

Tabela 10.5. Aplicações selecionadas de trabalhos com HNO_3 diluído.

Amostra	Reagentes	Analitos	Detecção	Ref.
Plantas usadas como forrageiras	250 mg de amostra; 2 mL de solução 2 mol L^{-1} HNO_3 e 1 mL de H_2O_2 (30%)	Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S e Zn	ICP OES	69
Café em pó	250 mg de amostra; 7 mL de solução 3,5 mol L^{-1} HNO_3 e 1 mL de H_2O_2 (30%)	Ba, Cu e P	ICP OES	71
Grão de soja; sangue bovino; músculo bovino e víscera bovina	200 mg de amostra; 2 mL de solução 2 mol L^{-1} HNO_3 e 1 mL de H_2O_2 (30%)	Ca, Fe, K, Mg, P e Zn	ICP OES	72
Fígado e músculo bovino	500 mg de amostra; 6 mL de solução 2 mol L^{-1} HNO_3 e 5 bar de O_2	Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn	ICP OES	77
Leite em pó integral; leite em pó desnatado; proteína de leite	500 mg de amostra; 6 mL de solução 2 mol L^{-1} HNO_3 e 5 bar de O_2	Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb e Zn	ICP OES	79
		Hg	ICP-MS	
Folhas de macieira, folhas de pessegueiro, acícula de pinho, folhas de oliveira e orégano	500 mg de amostra; 6 mL de solução 3 mol L^{-1} HNO_3 e 7,5 bar de O_2	Al, Ca, Fe, K, Mg e Na	ICP OES	80
Leite em pó integral e fígado bovino	i) 500 mg de leite em pó integral: 6 mL de solução 1,0 mol L^{-1} HNO_3 e 3 mL de H_2O_2 ii) 500 mg de fígado bovino: 6 mL de solução 1,5 mol L^{-1} HNO_3 e 2,5 mL de H_2O_2	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na e Zn	ICP OES	78
		Ca, Co e Pb	ICP-MS	
Gordura animal, fígado bovino, grão de soja, leite em pó desnatado e integral, folhas de orégano e amido de batata	500 mg de amostra; 6 mL de solução 2 mol L^{-1} HNO_3 e 7,5 bar de O_2. Resfriamento simultâneo de 190 m^3 h^{-1}	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na e Zn	ICP OES	73

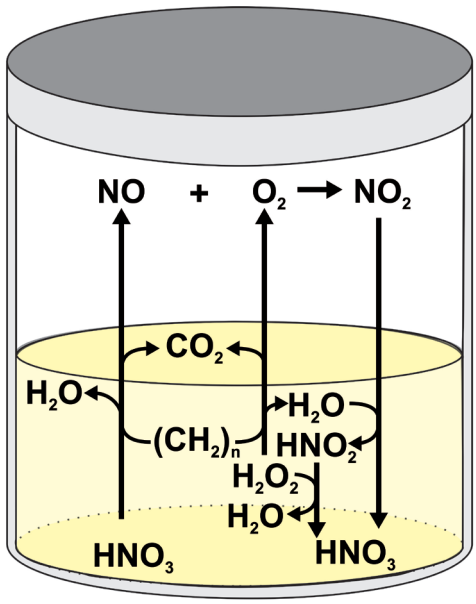

Figura 10.27. Representação de um frasco fechado com as reações de regeneração do HNO_3 na presença de H_2O_2. Estão representadas as reações que envolvem H_2O_2 na oxidação da matéria orgânica, decomposição térmica e formação de O_2 e de oxidação de HNO_2 a HNO_3.

Cuidados adicionais são necessários quando se utiliza H_2O_2 em sistemas fechados. A utilização do peróxido deve ser feita em quantidades gradativamente crescentes, uma vez que picos de pressão são observados próximos a 125 ºC, devido à decomposição térmica desse reagente.[32] Não obstante, a ação do H_2O_2 foi experimentalmente comprovada (Tabela 10.5),[69,71,72,78,86] mas ainda não foi completamente elucidado qual dos mecanismos propostos é o predominante.

A disponibilidade de quantidade suficiente de O_2 no frasco reacional é o fator mais limitante da regeneração do ácido. Porém, as reações envolvidas apresentam uma dependência do aquecimento seletivo gerado pela radiação micro-ondas.[71] A fase líquida, polar, apresentará um rápido aquecimento devido à interação da radiação micro-ondas, enquanto a fase gasosa e o frasco reacional (normalmente PTFE modificado ou quartzo) aquecerão por condução térmica. Essa diferença nos mecanismos de aquecimento resultará em um gradiente de temperatura ao longo do frasco reacional, sendo que a fase gasosa e as paredes do frasco reacional apresentarão temperaturas mais baixas que a mistura reacional.[65,69,76]

Esse gradiente de temperatura, mais intenso no início do ciclo de aquecimento, é fundamental para assegurar a condensação do NO_2 (produto da oxidação

do NO) nas paredes do frasco de reação e o seu retorno para a mistura reacional na forma de HNO_3 (equação 4).[71] Além disso, outras espécies em fase gasosa também condensarão, como vapor de água e de HNO_3, resultando em aumentos menos bruscos de pressão durante a etapa de aquecimento.[87] Assim, observa-se uma redução na pressão total do sistema, ocasionada pela redução da pressão parcial dos solventes utilizados (H_2O e HNO_3).[68,88]

O aumento do gradiente de temperatura dos frascos de decomposição foi explorado para melhorar a eficiência de decomposição de amostras orgânicas com solução diluída de HNO_3 e pressurização com O_2 (Tabela 10.5).[73] Nesse estudo, os frascos reacionais foram resfriados externamente com ar (60, 125 e 190 $m^3\ h^{-1}$) durante o aquecimento por radiação micro-ondas. Observou-se que o aumento da vazão do ar resultou em um aumento do gradiente de temperatura entre as paredes do frasco (menor temperatura) e a mistura reacional (maior temperatura). Além disso, o frasco reacional apresentou um menor incremento de pressão quando foi submetido ao resfriamento externo simultâneo. Essa redução no incremento de pressão permitiu a irradiação de micro-ondas em potências maiores por mais tempo, aumentando, assim, a temperatura da fase líquida. Além dos menores teores de carbono residual (RCC), quando o gradiente de temperatura foi intensificado, a solução final apresentou maior acidez residual, evidenciando a regeneração do HNO_3.

O menor RCC e a maior acidez residual, observados com o aumento do gradiente de temperatura, reforçam a hipótese de que a regeneração do HNO_3 é dependente da taxa de condensação do NO_2. Ao se aumentar a taxa de condensação, com o aumento do gradiente de temperatura ao longo do frasco reacional, melhor eficiência de decomposição foi observada para amostras como gordura animal, fígado bovino, grãos de soja, leite em pó desnatado ou integral, folhas de orégano e amido de batata.

Os métodos de preparo de amostra vêm apresentando notável evolução, quer seja pelo avanço da instrumentação utilizada, quer seja pela melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na decomposição de amostras. A possibilidade de utilização de reagentes diluídos é um exemplo desses avanços. O esclarecimento das etapas reacionais envolvidas na oxidação da matéria orgânica, vem permitindo o desenvolvimento racional de métodos cada vez mais limpos, ambientalmente corretos e em atendimento aos preceitos da química verde.

É importante que, ao transferir a amostra para o frasco de decomposição, não fiquem sólidos nas paredes do frasco sem contato com a solução de decomposição.

Durante o aquecimento com radiação micro-ondas pode ocorrer o superaquecimento localizado (principalmente no caso de substâncias orgânicas que podem carbonizar) levando a riscos de danos às paredes do frasco ou de uma explosão no caso de sistemas pressurizados com oxigênio ou empregando elevados volumes de peróxido de hidrogênio (outros cuidados adicionais estão descritos no Capítulo 14).

10.4.4. Métodos alternativos de decomposição com micro-ondas com radiação focalizada em sistemas abertos e em fluxo

Alem dos métodos já descritos para diminuir a concentração ácida dos digeridos, a seguir são apresentadas estratégias alternativas, que podem ser usadas para o preparo de amostras biológicas com baixo consumo de reagentes, contribuindo para a diminuição do branco analítico, e proporcionando soluções com baixos valores de RCC.

10.4.4.1. Decomposição em fase vapor

A decomposição em fase vapor consiste na reação da amostra com uma atmosfera enriquecida por vapores ácidos obtidos a partir do aquecimento de ácido ou de mistura ácida. As condições de decomposição previnem a volatilização de contaminantes presentes nos ácidos e a decomposição ocorre com a condensação do vapor ácido sobre a amostra.[89] Assim, a decomposição da amostra é feita, simultaneamente, com a purificação do ácido, resultando na diminuição nos valores de brancos e no consumo de ácido.[90]

Matusiewicz *et al.*[91] foram os primeiros a utilizar a decomposição em fase vapor assistida por radiação micro-ondas. Outros sistemas foram propostos,[92,93] sendo que a adição de uma pequena alíquota de água às amostras facilitou a absorção da radiação micro-ondas, possibilitando uma eficiente decomposição de amostras biológicas em, aproximadamente, 18 min.[92]

A decomposição em fase vapor também foi adaptada a sistemas de decomposição por micro-ondas com radiação focalizada. Para isso, desenvolveu-se um suporte confeccionado em PTFE para 4 mini-frascos, que foi adaptado a um tubo de digestão de vidro (Figura 10.28) contendo uma solução de ácido nítrico,[40,42] ou uma mistura dos ácidos nítrico e sulfúrico[41], que é aquecida para a geração dos vapores ácidos.

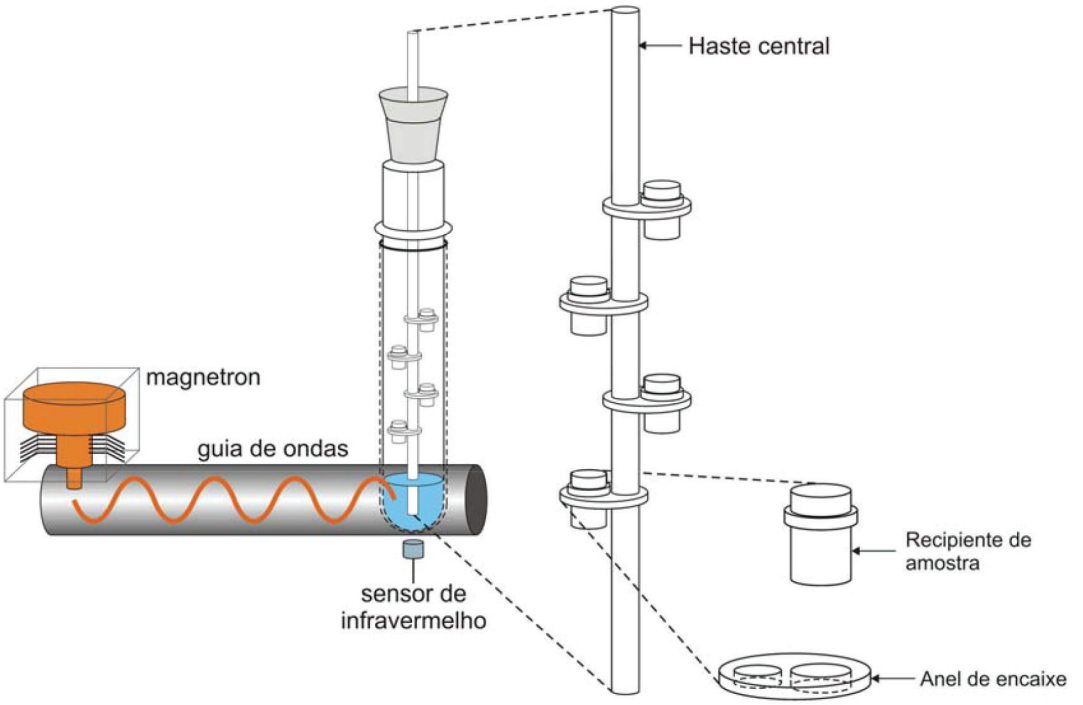

Figura 10.28. Sistema para decomposição de amostras em fase vapor assistida por micro-ondas com radiação focalizada utilizando-se mini-frascos de PTFE, com detalhes do suporte e do mini-frasco. Adaptada de Araújo *et al.*[40]

Amostras biológicas são pesadas diretamente nos mini-frascos e recebem o agente oxidante (peróxido de hidrogênio ou hipoclorito de sódio). A seguir, os mini-frascos são adaptados à haste do suporte, que é inserida no frasco de vidro do equipamento contendo a solução ácida no fundo, sendo então iniciada a decomposição em fase vapor.

Após as decomposições, os mini-frascos são diretamente transferidos para o auto-amostrador de espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS), para a determinação dos analitos. Nesse caso, Fe e Co foram determinados com exatidão adequada. Visando maior aplicabilidade, frascos com maior volume interno possibilitaram a determinação de vários analitos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).[41] Para se evitar que diferentes resultados fossem obtidos em função das diferenças de temperatura ao longo do frasco de decomposição (os experimentos demonstraram que apenas o frasco inferior recebia a incidência da radiação micro-ondas), adicionou-se hipoclorito de sódio que, em meio ácido, forma o gás cloro, um agente oxidante bastante efetivo (equações 7 e 8):

$$OCl^-_{(aq)} + H^+_{(aq)} \rightleftharpoons HOCl_{(aq)} \quad \textbf{(7)}$$

$$HOCl_{(aq)} + H^+_{(aq)} + Cl^-_{(aq)} \rightleftharpoons Cl_{2\,(g)} + H_2O_{(l)} \quad \textbf{(8)}$$

Tanto o H_2O_2 quanto HOCl são oxidantes fortes em meio ácido (equações 9 e 10).[94] Porém, a decomposição de H_2O_2 forma somente moléculas de água como produto, enquanto que a decomposição de HOCl também forma Cl_2, aumentando o poder oxidante (equação 11):

$$H_2O_{2\,(aq)} + 2\,H^+_{(aq)} + 2\,e^- \rightleftharpoons 2\,H_2O_{(l)} \quad E^o = 1{,}78\ V \quad \textbf{(9)}$$

$$2\,HOCl_{(aq)} + 2\,H^+_{(aq)} + 2\,e^- \rightleftharpoons Cl_{2\,(g)} + H_2O_{(l)} \quad E^o = 1{,}61\ V \quad \textbf{(10)}$$

$$Cl_{2\,(g)} + 2\,e^- \rightleftharpoons 2\,Cl^-_{(aq)} \quad E^o = 1{,}36\ V \quad \textbf{(11)}$$

A escolha do melhor agente oxidante irá depender das características das amostras, tais como os teores de gordura e/ou de proteína.

10.4.4.2. Utilização de mini-frascos em sistema com radiação micro-ondas focalizada

Baseando-se no princípio do frasco único para execução de todo procedimento analítico, foi proposto um suporte de PTFE ao qual foram adaptados 4 mini-frascos de polipropileno de 5 mL. Esse suporte é fixado em uma haste para permitir a introdução dos mini-frascos no interior do frasco de vidro do equipamento.[95] Esses frascos tiveram sua parte superior especialmente adaptada para a introdução da haste com as amostras (Figura 10.29)

Com o sistema proposto, foi possível a determinação de Cu, Fe e Zn em amostras de fígado bovino e folhas de vegetais, e de Cu, Fe, Zn, Mn e Se em amostras de cabelo.[95]

10.4.4.3. Adição gradual da amostra ao reagente pré-aquecido

O procedimento convencional de decomposição assistida por micro-ondas com radiação focalizada consiste na adição de reagentes concentrados sobre a amostra e, então, a mistura é aquecida. Todavia, é possível a obtenção de um meio reacional mais efetivo, se a amostra for adicionada ao ácido ou mistura de ácidos

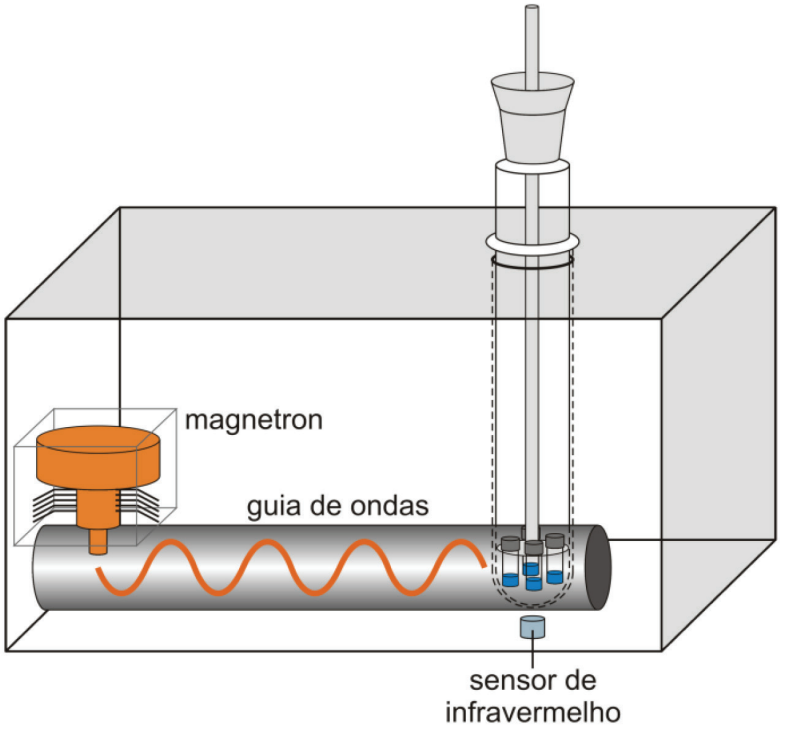

Figura 10.29. Posicionamento dos mini-frascos de PTFE para decomposição de amostras em forno micro-ondas com radiação focalizada. Adaptada de Oliveira *et al.*[96]

previamente aquecidos, proporcionando uma decomposição em meio mais concentrado com relação ao reagente, ou seja, o ácido será menos diluído pela amostra do que no procedimento convencional.[37,44,45]

Nessa proposta, o reagente é aquecido até seu ponto de ebulição e, então, são adicionadas gradualmente alíquotas da amostra, sendo que cada porção adicionada é digerida antes da adição da próxima alíquota. Essa estratégia possibilita a redução do tempo envolvido e a decomposição de uma grande quantidade de amostra, mesmo com menores volumes de ácido, permitindo a obtenção de menores valores de branco e, consequentemente, melhores limites de detecção.

O bom desempenho desse tipo de decomposição está relacionado, provavelmente, à reatividade dos radicais gerados durante o aquecimento dos ácidos concentrados e à reação exotérmica durante a decomposição, que irá aumentar ainda mais a taxa de aquecimento do meio reacional. Entretanto, deve-se tomar cuidado com esse tipo de reação para evitar acidentes. Não se recomenda a execução desse procedimento em sistemas abertos, como chapas aquecedoras, blocos digestores ou banhos de areia, nos quais o analista ficará exposto durante o processo de adição da amostra.

No método aqui descrito, utilizou-se um sistema comercial, que conta com um acessório para a adição automática de reagentes de forma gradual e controlada, nesse caso empregado para a adição das amostras. Para se evitar a contaminação cruzada, deve ser utilizada uma etapa de limpeza entre as amostras. Amostras de leite bovino e de óleo foram eficientemente decompostas empregando procedimentos relativamente simples. Como exemplo, 5 mL de leite foram gradualmente adicionados (10 alíquotas de 0,5 mL) sobre uma mistura ácida pré-aquecida contendo 3 mL de HNO_3 + 1 mL H_2SO_4, adicionando-se H_2O_2 nas etapas finais. Nessa avaliação, mesmo para a decomposição de uma quantidade de leite duas vezes maior, o volume dos ácidos utilizados foi reduzido de 10 para 3 mL (HNO_3) e de 3 para 1 mL (H_2SO_4). Com essa estratégia, a acidez final foi cerca de 2,4 vezes inferior ao método convencional e o RCC foi reduzido de 20% para 2%.[45]

A mesma estratégia foi empregada para a decomposição de óleo diesel. Nesse caso, o consumo de ácidos concentrados para decompor 2 mL de óleo diesel, diminuiu de 19 mL HNO_3 + 10 mL H_2SO_4 para 5 mL HNO_3 + 1 mL H_2SO_4. Consequentemente, esse procedimento concorre para que a solução final apresente menor acidez, viabiliza uma diluição menor antes das determinações e resulta em melhores limites de detecção.

Como alternativa para se contornar problemas relacionados às amostras viscosas, ou mesmo a contaminação entre amostras, propôs-se a adição das amostras previamente inseridas em cápsulas gelatinosas, vendidas em farmácias de manipulação.[97] A decomposição assistida por radiação micro-ondas empregando cápsulas foi originalmente proposta para introdução de amostras sólidas em sistemas mecanizados.[58] Massas equivalentes a 300 mg de óleo lubrificante foram pesadas diretamente nas cápsulas de gelatina, sendo que duas cápsulas foram adicionadas a uma mistura pré-aquecida contendo 4 mL HNO_3 + 3 mL H_2SO_4, através do condensador do equipamento, com interrupção do programa de aquecimento. As cápsulas foram introduzidas em intervalos de 1 min, com o objetivo de se permitir uma decomposição parcial antes da adição da próxima alíquota. Quando comparado ao sistema convencional de micro-ondas com radiação focalizada para a decomposição de óleo lubrificante, há uma redução nos volumes de ácido nítrico concentrado (de 19 para 7 mL) e de H_2SO_4 (de 10 para 3 mL), além de diminuição no RCC.

10.4.5. Sistemas de decomposição em fluxo

Os métodos assistidos por radiação micro-ondas em fluxo são, geralmente, configurados de maneira que se possa acoplar o método de decomposição com o método de determinação. Esses métodos apresentam algumas características interessantes, como a mecanização do processo de decomposição de amostras, aumento da frequência analítica (etapa de pré-tratamento interligada com a análise quantitativa) e maior segurança operacional, pois condições mais amenas de pressão e temperatura são normalmente empregadas. Adicionalmente, como a reação é realizada em fluxo, as dimensões do sistema são reduzidas e não há contato da mistura reacional com a atmosfera do laboratório. Essas duas últimas vantagens reduzem drasticamente os problemas relacionados à contaminação e contribuem para melhorar os limites de detecção. Esses sistemas podem ser associados a estações de controle automatizadas e operados de maneira remota.

Resumidamente, os procedimentos em fluxo são caracterizados pela condução e decomposição das amostras através de reatores tubulares, geralmente de PTFE, em regime de fluxo contínuo. Diferentemente dos sistemas em batelada, apenas amostras líquidas ou suspensões podem ser processadas nesse tipo de sistema. No entanto, sua principal vantagem está associada à redução significativa da manipulação da amostra, ou seja, a introdução da amostra, a adição de reagentes, os processos de decomposição, a diluição da solução resultante e, eventualmente, o transporte dessa solução até a unidade de detecção, são executados em fluxo contínuo, permitindo, ainda, o controle de forma automatizada. Também é possível operar esses sistemas com parada de fluxo, para aumentar o tempo de residência da amostra no interior do reator durante a irradiação com micro-ondas. De maneira geral, todas essas etapas são incluídas nos três estágios principais dos sistemas em fluxo: introdução da amostra, aquecimento e arrefecimento/desgaseificação.[98]

No primeiro estágio, usualmente são definidas as proporções entre o volume de amostra e o volume dos reagentes. Adicionalmente, deve-se escolher um transportador adequado para a amostra, que seja capaz de garantir a limpeza da tubulação para evitar efeitos de memória. Na etapa de aquecimento, segundo estágio, a amostra, no interior de um reator tubular, interage com a radiação micro-ondas com limites impostos pela temperatura de ebulição do solvente, pressão máxima suportada e vazão do transportador, que define o tempo de residência da amostra sob

aquecimento. O terceiro estágio é destinado ao arrefecimento da solução e remoção dos gases oriundos do processo de decomposição, principalmente, CO_2.[98]

A primeira proposta para a utilização de decomposição de amostras assistida por radiação micro-ondas em sistemas por injeção em fluxo foi feita por Burguera *et al.*[99]. Desde então, diferentes sistemas com acoplamento do tratamento da amostra (normalmente decomposição) em fluxo com o sistema de detecção foram desenvolvidos. Para isso, empregaram-se tanto fornos de uso doméstico,[100] quanto sistemas comerciais com radiação focalizada.[101,102]

Como exemplo da aplicação aos sistemas com radiação micro-ondas focalizada, um sistema em fluxo foi utilizado por Fili *et al.*[43] para decomposição de suco de laranja, visando à determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn por ICP OES. Um reator tubular helicoidal de PTFE de 4 m de comprimento e 1,6 mm de diâmetro interno foi posicionado no interior do frasco de vidro posicionado no guia de ondas de um sistema com micro-ondas focalizadas (Figura 10.30). Alíquotas de 500 μL de amostra e de 1000 μL de reagente (80% (v/v) HNO_3) foram misturadas por confluência e conduzidas para o reator helicoidal, utilizando ar como fluido transportador. Com o método proposto, o coeficiente de variação das medidas foi sempre inferior a 5% para cinco alíquotas da mesma amostra. Adicionalmente, os resultados foram concordantes a um nível de confiança de 95% com aqueles obtidos

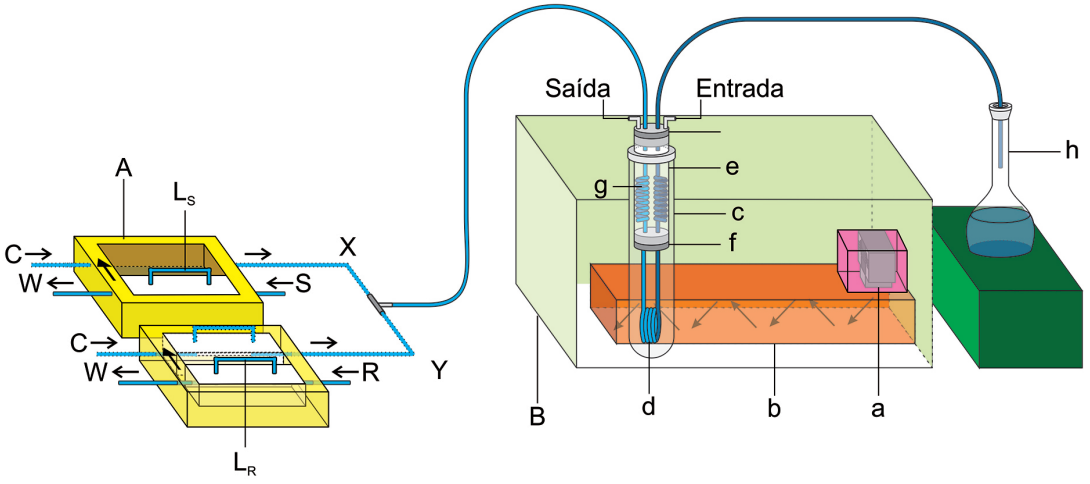

Figura 10.30. (A): diagrama do injetor-comutador; S: amostra; R: reagente; C: fluxo transportador (3,0 mL min^{-1}); W: descarte; LS: alça de amostragem; LR: alça de reagente. (B): diagrama do sistema de decomposição em linha: a: magnetron; b: guia de ondas; c: frasco de vidro; d: bobina de PTFE; e: sistema para resfriamento em PVC; f: tampa de borracha; g: reator helicoidal de PTFE (5 cm); h: balão volumétrico (10 mL). Reprodução autorizada: Fili *et al.*[43]

por decomposição total. Foi possível processar 12 amostras por hora, minimizando contaminações, consumo de reagentes e gerando pequena quantidade de resíduos.

Wiltsche *et al.*[103] desenvolveram um sistema de decomposição em fluxo a alta pressão, utilizando tubos capilares de PFA posicionados na cavidade de um forno de micro-ondas operando a 400 W. Os resultados iniciais indicaram que a eficiência de decomposição está associada ao tempo de residência da suspensão no interior da cavidade do forno de micro-ondas. Contudo, quando a vazão da suspensão foi reduzida para 0,5 mL min^{-1} o tempo de análise aumentou de 10 para 40 min. Dessa forma, os autores utilizaram uma vazão intermediária (2 mL min^{-1}) de diferentes suspensões de amostras biológicas (1% (m/v)) preparadas em uma mistura de HNO_3, HCl e HF. Embora, a eficiência de decomposição não tenha sido elevada (RCC entre 11 e 40%), os resultados para vários elementos foram concordantes com os valores certificados dos materiais de referência, após a análise dos digeridos por ICP OES. Os resultados também foram concordantes, em um nível de confiança de 95%, com aqueles obtidos após decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas em batelada. Cabe destacar, que o procedimento é completamente automatizado e o baixo nível de contaminação foi associado à menor manipulação da amostra, bem como à redução do contato da solução com a atmosfera do laboratório e demais partes metálicas do sistema.

O sistema desenvolvido por Wiltsche *et al.*[103] foi aperfeiçoado e maior eficiência de digestão foi obtida com um reator tubular helicoidal de PFA com maior volume (13,5 mL) (Figura 10.31).[104,105] Esse sistema possibilitou efetuar a decomposição sob pressão relativamente elevada (40 bar) e a estabilidade mecânica foi atingida mantendo-se o reator sob pressurização com nitrogênio em um recipiente fechado. Diversas amostras de tecidos animais e vegetais foram decompostas usando ácido nítrico ou uma mistura de ácido nítrico com ácido clorídrico e/ou ácido fluorídrico, sendo escolhida como condição de compromisso uma vazão de 5 mL min^{-1} e potência de radiação micro-ondas de 500 W. Nessas condições o carbono residual para soluções modelo contendo 10 g L^{-1} glicose e 9 g L^{-1} glicina foi de 2,3 ± 0,5 e 37 ± 3 %, respectivamente. Esse sistema representa uma evolução com relação ao modelo anterior,[103] por exemplo, para uma solução contendo 25 g L^{-1} glicose o teor de carbono residual foi 24 % para o sistema mais antigo[103] e 2 % para o sistema atual.[104] Para uma solução contendo 28 g L^{-1} glicina, o teor de carbono residual diminuiu de *ca*. 90% para um valor ao redor de 20-40% dependendo das condições de digestão.

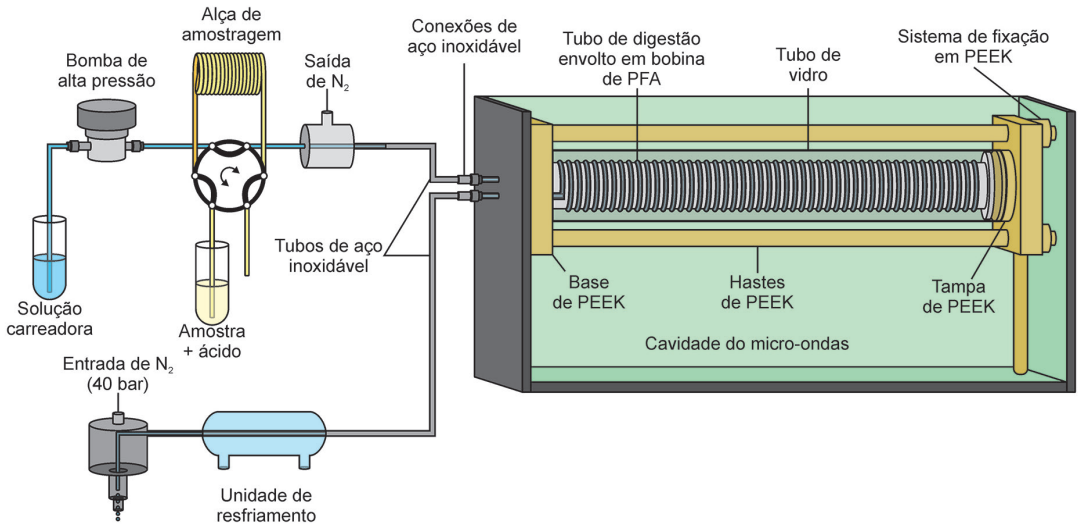

Figura 10.31. Sistema de decomposição em fluxo com reator de 13,5 mL: pressão interna até 40 bar; pressão externa > 50 bar. Adaptada de Marques *et al.*[104]

Em outro trabalho, foi proposto um sistema em fluxo assistido por radiação micro-ondas para decomposição de efluentes e determinação de fósforo por espectrofotometria.[106] Válvulas solenoides foram conectadas a um computador para automatização do sistema. Após, a injeção da amostra juntamente com os reagentes, a mistura reacional foi conduzida para um reator posicionado no interior da cavidade de um forno de micro-ondas de uso doméstico. Embora parte do tratamento da amostra fosse realizado em fluxo, o reator com aquecimento assistido por radiação micro-ondas foi manuseado de modo descontínuo. Nas condições recomendadas, o sistema permitiu somente a determinação de fósforo total em águas; por outro lado, cabe informar que a taxa de conversão de fósforo, a partir de fosfatos condensados, não foi superior a 10%, mesmo com o aumento do tempo de aquecimento e adição de H_2SO_4 e $K_2S_2O_8$.

A principal limitação de sistemas de decomposição em fluxo está relacionada à dificuldade de introdução de amostras sólidas. Portanto, os sistemas são projetados para o processamento de amostras líquidas ou de suspensões, para evitar o bloqueio das válvulas de injeção por deposição de material particulado em linha. Há uma tendência para o desenvolvimento de sistemas em fluxo automatizados e/ou operados remotamente com o objetivo de aumentar a frequência analítica e reduzir a manipulação das amostras no laboratório. Cabe informar que o modelo *SpectroPrep* (CEM Corporation) foi o primeiro sistema de decomposição em fluxo

disponível comercialmente. Nesse sistema, as amostras eram introduzidas na forma de suspensão por meio de um auto-amostrador e, posteriormente, conduzidas para um reator assistido por radiação micro-ondas.

10.4.6. Decomposição assistida por micro-ondas combinada com ultrassom

Ultrassom e micro-ondas são atualmente duas das principais fontes de conversão efetiva de energia na área de química. De forma simplificada, os efeitos estão relacionados ao rápido aquecimento e à transferência de massa que induzem transformações químicas de maneira seletiva. Esse tipo de acoplamento pode ser conduzido de forma sequencial ou simultânea, mas exige alguns cuidados principalmente relacionados à possibilidade de reflexão das ondas eletromagnéticas na superfície metálica da sonda de ultrassom.[107] A associação da radiação micro-ondas com outras fontes de energia como, por exemplo, ultrassom foi avaliada para a decomposição de óxidos inorgânicos, óleo vegetal e alimentos por Chemat *et al.*[108]. A efetividade do sistema para a decomposição de amostras foi comprovada pela determinação de cobre e nitrogênio total nos digeridos de óleo comestível e alimentos, respectivamente. Nesse caso, uma sonda de ultrassom foi posicionada juntamente com um sistema de micro-ondas do tipo monomodo, de maneira a evitar a reflexão das ondas eletromagnéticas na superfície metálica da sonda. O uso deste tipo de sistema possibilita a redução do tempo de decomposição, mesmo operando a pressão atmosférica, principalmente quando comparado ao tempo de decomposição empregando aquecimento condutivo. Possivelmente, o ultrassom aumenta o efeito de transporte das moléculas e induz agitação em nível molecular favorecendo, assim, a homogeneidade de aquecimento. Em adição aos efeitos cinéticos, o fenômeno de cavitação induzido por ultrassom pode promover a fragmentação de sólidos e excitação molecular.[107,108] Uma discussão mais detalhada sobre o uso de ultrassom no preparo de amostras é apresentada no Capítulo 6.

Buscando uma técnica alternativa para a decomposição de alimentos para determinação do teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, Domini *et al.*[109] descreveram um sistema combinado ultrassom e micro-ondas. Diferentemente dos trabalhos anteriores, esse tipo de acoplamento foi efetuado com forno de radiação micro-ondas do tipo multimodo (cavidade). Um equipamento de ultrassom com

sonda de vidro (*Pyrex*) foi introduzido na parte superior de um frasco fechado. A etapa de decomposição foi conduzida em uma mistura de H_2SO_4 e H_2O_2 e as demais variáveis do sistema foram otimizadas com auxílio de planejamento fatorial. O tempo de decomposição foi, aproximadamente, quatro vezes inferior ao necessário para a decomposição convencional com aquecimento condutivo. Adicionalmente, foi possível reduzir a quantidade de reagentes na decomposição empregando o sistema combinado.[109]

Embora esse tipo de acoplamento não esteja disponível comercialmente, Canals *et al.*[110] registraram pedido de patente para o acoplamento de micro-ondas (2,45 GHz) com sistema de ultrassom (24 kHz) com sonda de vidro de 12 mm de diâmetro. O sistema opera sob pressão atmosférica e o frasco deve ser transparente à radiação micro-ondas.

Recentemente, Ragaini *et al.*[111] descreveram em detalhes um novo reator baseado no acoplamento de micro-ondas e ultrassom. A energia térmica dissipada pelo sistema foi mensurada por calorimetria. A associação aumentou a transferência de energia para o meio reacional, independentemente do momento dipolar da solução como, por exemplo, água e ciclohexano. O sistema desenvolvido utiliza uma espécie de antena (sonda de titânio) para propagação das micro-ondas diretamente no meio reacional.

Mesmo que a eficiência do acoplamento micro-ondas e ultrassom tenha sido efetivamente relatada na literatura, baseada principalmente nos fenômenos de aumento da superfície de contato de sólidos e transferência de calor, não há um completo entendimento de outros fenômenos que possam ocorrer a partir dessa associação.

10.4.7. Aplicações da decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em normas oficiais

Nos últimos anos várias aplicações têm sido propostas envolvendo a decomposição de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas. Algumas dessas aplicações estão mostradas na Tabela 10.6.

Tabela 10.6. Aplicações da decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em procedimentos recomendados pela *American Society of Test and Materials (ASTM)*, *Environmental Protection Agency (EPA)*, *United States Consumer Product Safety Commission (CPSC)*, Farmacopeia Brasileira e *AOAC International*.

Norma recomendada	Amostra	Massa amostra/ Reagentes	Tipo de sistema	Analito(s)	Referência
ASTM D5513	Amostras industriais: coque, carvão, aditivos de cimento, cinzas, entre outras	0,5 g/ *i*) 8 mL HNO_3 *ii*) 4 mL HF e 2 mL HCl *iii*) 35,5 mL H_3BO_3 (20 g L^{-1})	Sistema fechado com frascos de PFA (pressão de 10 bar)	Ag, As, Ba, Be, Cd, Cr, Hg, Pb, Sb e Tl. Poderá ser estendida para outros elementos-traço	112
ASTM E1645	Tintas	0,1-0,2 g/5 mL HNO_3 ou 5 mL de uma mistura na proporção de 3:1 HCl (18% (v/v)) e HNO_3 (6% (v/v))	Sistema fechado com frascos de TFM ou material equivalente; temperatura de 180 ºC por pelo menos 15 min (rampa de 10 min); pressão de 30 bar	Pb	113
ASTM C1387	Solos	0,5 g/10 mL HNO_3	Sistema fechado com frascos de PTFE (pressão de 41 bar e temperatura de 200º C)	Tc	114
ASTM C1463	Vidros	0,25 g/ *i*) 5 mL H_2O, 5 mL HNO_3 e 5 mL HF *ii*) 5 mL HCl e 40 mL de 0,6 mol L^{-1} H_3BO_3	Sistema fechado com frascos de PTFE *i*) aquecimento por 15 min a 7 bar; *ii*) aquecimento por 30 min a 5,5 bar	Elementos-traço e resíduos de elementos químicos radioativos	115
ASTM D4309	Águas residuais industriais, de superfície, salinas e de serviço	50 mL/5 mL HNO_3 e 2 mL HCl	Sistema fechado (pressão de 7 bar e temperatura de 200 ºC); 575-1000 W	Al, Ag, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb, Se e Zn	116
ASTM D7035	Material particulado suspenso no ar atmosférico	Filtro de amostragem (25-37 mm de diâmetro)/5 mL HNO_3 ou 4 mL HNO_3 e 1 mL de $HClO_4$ 5 mL HCl/HF em caso de decomposição incompleta	Sistema fechado com frascos de TFM ou material equivalente; temperatura de 180 ºC por 15 min (rampa de 10 min); pressão de 30 bar	Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, Hf, In, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Pt, Rh, Sb, Se, Sn, Sr, Ta, Te, Ti, Tl, U, V, Y, W, Zn e Zr	117
ASTM D 7303	Graxas lubrificantes	0,1-1,0 g/4 mL de HNO_3, HCl ou outro ácido inorgânico apropriado	Sistema fechado com frascos de PTFE, TFM ou PFA com sistema de alívio de pressão (pressão de 30 bar); *i*)125 W por 15 min *ii*) 190 W por 15 min	Al, Ba, Ca, Fe, Li, Mg, Mo, Na, P, S, Sb, Si e Zn	118
ASTM D7876	Derivados do petróleo e lubrificantes (graxas, aditivos, óleo lubrificante, gasolina e diesel)	1,0 g/ *i*)10 mL HNO_3 *ii*) pequena quantidade de $HClO_4$ 0,1-1,0 g/4 mL HNO_3 (ou volume mínimo exigido pelo fabricante). HF em caso de decomposição incompleta (sílica ou elementos refratários)	Sistema aberto 30 W por 60 min, frascos de PTFE, TFM, PFA ou quartzo Sistema fechado frascos de PTFE, TFM ou PFA *i*)125 W por 15 min *ii*) 190 W por 15 min (pressão de 30 bar e temperatura de 200 ºC). Sistema de segurança para prevenir explosão do frasco é exigido.	Al, B, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Sb, Si, V e Zn	119

Tabela 10.6. Aplicações da decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em procedimentos recomendados pela *American Society of Test and Materials (ASTM)*, *Environmental Protection Agency (EPA)*, *United States Consumer Product Safety Commission (CPSC)*, Farmacopeia Brasileira e *AOAC International*. (cont.)

Norma recomendada	Amostra	Massa amostra/ Reagentes	Tipo de sistema	Analito(s)	Referência
ASTM F3139	Ligas metálicas de estanho	0,5 g/10 mL de uma mistura (1:1:1) H_2O, HNO_3 e HF	Sistema fechado com frascos de PTFE, TFM ou PFA; temperatura de 180 ºC por 10 min (rampa de 10 min); pressão de 55 bar	Ag, Al, As, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ge, Hg, In, Ni, P, Pb, Sb, Se, Tl e Zn	120
ASTM C1347	Ligas metálicas de urânio (materiais refratários contendo sílica e alumínio)	1,0 g/4 mL HNO_3, 3 mL HCl e 0,5 mL de HF	Sistema fechado de alta pressão com frascos de PTFE, TFM ou PFA	U	121
E1001	Produtos metálicos de uso infantil	0,030-0,1 g/4,5 mL HNO_3 e 1,5 mL HCl	Sistema fechado; temperatura de 175 ºC por 4,5 min (rampa de 5,5 min)	Pb	122
E1002	Produtos não metálicos de uso infantil cerâmicas, vidros, cristais e outros materiais à base de sílica	0,030-0,1 g/3 mL HNO_3 e 1 mL HF 30 mL H_3BO_3 (4% m/m)	Sistema fechado; temperatura de 180 ºC por 9,5 min (rampa de 5,5 min)	Pb	123
E1002	Produtos não metálicos de uso infantil plásticos, polímeros e outros materiais que não contenham sílica	0,030-0,1 g/5 mL HNO_3	Sistema fechado; temperatura de 200 ºC por 10 min (rampa de 20 min)	Pb	123
EPA 3051A	Sedimentos, lodos, solos e óleo	0,25-0,50 g/10 mL HNO_3, ou alternativamente, 9 mL HNO_3 e 3 mL HCl	Sistema fechado com frascos de PTFE, TFM, PFA ou quartzo; temperatura de 175 ºC por 10 min (rampa de 5,5 min); pressão de 30 bar; 600-1200 W	Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Tl, V e Zn	124
EPA 3052	Cinzas, material biológico, óleo, solo contaminado com óleo, sedimentos, lodos e solos	0,25-0,50 g/9 mL HNO_3, 0-5 mL HF (>3 mL para SiO_2 >70%) e 2 mL HCl. Adição de H_2O_2 (0,1-2 mL), H_2O (0-5 mL) e H_3BO_3 pode ser requerida para a completa oxidação da matéria orgânica, dissolução de minerais e neutralizar o excesso de HF, respectivamente	Sistema fechado com frascos de PTFE, TFM ou PFA; temperatura de 180 ºC por 9,5 min (rampa de 5,5 min); pressão de 30 bar; 600-1200 W	Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Tl, V e Zn	125
Farmacopeia Brasileira, 5ª Edição	Substâncias farmacêuticas diversas	0,1-0,5 g/v de HNO_3 de acordo com especificação técnica do equipamento	Sistema fechado na temperatura de 180 ºC por 20 min	As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V	126

Tabela 10.6. Aplicações da decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em procedimentos recomendados pela *American Society of Test and Materials (ASTM)*, *Environmental Protection Agency (EPA)*, *United States Consumer Product Safety Commission (CPSC)*, Farmacopeia Brasileira e *AOAC International*. (cont.)

Norma recomendada	Amostra	Massa amostra/ Reagentes	Tipo de sistema	Analito(s)	Referência
Método AOAC 2006.03 modificado	Fertilizantes	1,0 g (0,5 g para amostras com alto teor de carbono)/9,0 mL de HNO_3 (aguardar por 20 min) e 3 mL HCl	Sistema fechado 200 ºC por 20 min (rampa de 15 min); limite mínimo de pressão de 50 bar	As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se e Zn	127
Métodos AOAC 2013.06 e AOAC 2011.19 modificados	Fórmulas infantis, suplemento alimentar para adultos e produtos a base de leite	0,5 g/4 mL de HNO_3 e 1 mL H_2O	Sistema fechado com frascos de PTFE ou equivalente (i) 120 ºC por 20 min (rampa de 5 min) (ii) 200 ºC por 30 min (rampa de 10 min), potência de 1600 W	Al, As, Cd, Co, Cr, Hg, Mo, Pb, Se e Sn	128
Estudo interlaboratorial AOAC	Arsênio em frutos do mar	0,20-0,25 g/2 mL HNO_3 e 0,5 mL H_2O_2	Sistema fechado (i) 250 W por 1 min (ii) 0 W por 1 min (iii) 250 W por 5 min (iv) 400 W por 5 min (v) 650 W por 5 min	As	129

10.5. CONCLUSÕES

Uma grande variedade de propostas e alternativas envolvendo aquecimento assistido por radiação micro-ondas podem ser exploradas no preparo de amostras. Essas incluem extrações e hidrólises, para as quais o uso da radiação micro-ondas apresenta-se bastante promissor, embora não tenham sido contempladas neste capítulo. Outro fato que deve ser enfatizado são os novos equipamentos que possibilitam a decomposição simultânea de um maior número de amostras. O desenvolvimento de procedimentos analíticos de rotina demanda um grande número de amostras a serem processadas, o que já está relativamente bem resolvido pelos métodos de determinação existentes. No entanto, o tempo envolvido nos procedimentos de preparo das amostras ainda é longo.

Algumas das propostas discutidas, que se reportam ao uso de frasco único e empregam pequenos volumes de amostras devem ser estimuladas, pois permitem a decomposição simultânea de um maior número de amostras e evitam o uso de um grande volume de ácidos, estando em concordância com os princípios da química verde pelo menor consumo de reagentes e menor geração de resíduos.[130] Além disso, equipamentos com rotores com um maior número de amostras a serem decompos-

tas simultaneamente vêm sendo cada vez mais utilizados. As pressões operacionais relativamente baixas (até 30 atm) para os frascos desses rotores não se apresentam como problema, pois estudos já demonstraram a obtenção de decomposições eficientes nessas condições.[131] Por outro lado, decomposições drásticas serão cada vez menos necessárias, considerando-se que as espécies químicas deverão ser analisadas conforme sua atuação na matriz, sendo que a extração será o procedimento de preparo mais empregado, aqui se considerando a especiação química. Seguindo essa tendência, os procedimentos de preparo de amostras deverão ficar cada vez mais brandos e, gradualmente, procedimentos drásticos de preparo, que empregam grandes quantidades de energia, reagentes oxidantes e altas temperaturas e pressões, serão substituídos por métodos menos agressivos, nos quais o analito é separado da matriz sem a necessidade de decomposição total da amostra. Os métodos assistidos por radiação micro-ondas mostram-se adequados também para esse fim, devido à possibilidade de se controlar as condições de reação, sendo que o estabelecimento de procedimentos voltados para essa aplicação é um desafio a ser enfrentado pelos pesquisadores. Uma discussão adicional sobre as estratégias de preparo de amostras para especiação química e aos aspectos de segurança é apresentada nos Capítulos 13 e 14, respectivamente.

REFERÊNCIAS

1. ABU-SAMRA, A.; MORRIS, J. S.; KOIRTYOHANN, S. R. Wet ashing of some biological samples in a microwave oven. **Analytical Chemistry**, 47, 1475-1477, 1975.
2. KAPPE, C. O. How to measure reaction temperature in microwave-heated transformations. **Chemical Society Reviews**, 42, 4977-4990, 2013.
3. FLORES, E. M. M. (Ed.), **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. Amsterdam: Elsevier, 2014. 400 p.
4. CHANDRA, U. **Microwave Heating**. Rijeka: InTech, 2011. 370 p.
5. ZLOTORZYNSKI, A. The Application of Microwave Radiation to Analytical and Environmental Chemistry. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 25, 43-76, 1995.
6. ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Elements of Physical Chemistry**. New York: W. H. Freeman, 2009. 627 p.

7. KINGSTON, H. M.; WALTER, P. J.; CHALK, S.; LORENTZEN, E.; LINK, D. **Environmental Microwave Sample Preparation: Fundamentals, Methods, and Applications**. In: Kingston, H. M., S. J. Haswell (Eds.), **Microwave-Enhanced Chemistry: Fundamentals, Sample Preparation, and Applications**, Washington, DC: American Chemical Society, 1997. p. 233-349.

8. NEAS, E. D.; COLLINS, M. J. **Microwave Heating: Theoretical Concepts and Equipment Design**. In: Kingston, H. M., L. B. Jassie (Eds.), **Introduction to Microwave Sample Preparation: Theory and Practice**, Washington: American Chemical Society, 1988. p. 7-32.

9. MICHAEL, D.; MINGOS, P.; BAGHURST, D. R. **Fundamentals of microwave application**. In: Kingston, H. M., S. J. Haswell (Eds.), **Microwave-enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation, and applications**, Washington: American Che mical Society, 1997. p. 3-53.

10. FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, J. C.; KUBOTA, L. T.; KORN, M.; OLIVEIRA, P. V.; ARRUDA, M. A. Z. Influence of microwave heating on fluoride, chloride, nitrate and sulfate concentrations in water. **Talanta**, 85, 2707-2710, 2011.

11. BOGDAL, D.; PROCIAK, A. **Microwave-Enhanced Polymer Chemistry and Technology**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. 275 p.

12. GABRIEL, C.; GABRIEL, S.; H. GRANT, E.; S. J. HALSTEAD, B.; MICHAEL P. MINGOS, D. Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating. **Chemical Society Reviews**, 27, 213-224, 1998.

13. KINGSTON, H. M.; JASSIE, L. B. (Eds.), **Introduction to Microwave Sample Preparation: Theory and Practice**. Washington: American Chemical Society 1988. 288 p.

14. KINGSTON, H. M.; HASWELL, S. J. (Eds.), **Microwave-enhanced chemistry - fundamentals, sample preparation and applications**. Washington: American Chemical Society, 1997. 772 p.

15. BARNES, R. M.; JUNIOR, D. S.; KRUG, F. J. **Introduction to Sample Preparation for Trace Element Determination**. In: Flores, E. M. M. (Ed.) **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**, Amsterdam Elsevier, 2014. p. 1-58.

16. CEM Microwave Digestion. disponível em: http://www.cem.com/acid-digestion.html; acessado em 10/06/2016.

17. Milestone Microwave Digestion. disponível em: http://www.milestonesrl.com/en/microwavedigestion.html; acessado em 10/06/2016.

18. Berghof Microwave Digestion Systems. disponível em: http://www.berghof.com/en/products/laboratory-equipment/digestion-technology/microwave-digestion/overview/; acessado em 30/05/2016.

19. Anton Paar Sample Preparation Products. disponível em: http://www.anton-paar.com/corp-en/products/group/sample-preparation/; acessado em 10/06/2016.

20. MATUSIEWICZ, H. **Systems for Microwave-Assisted Wet Digestion**. In: Flores, E. M. M. (Ed.) **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**, Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 77-98.

21. ARRUDA, M. A. Z. (Ed.), **Trends in Sample Preparation**. New York: Nova Science Publishers, 2007. 304 p.

22. MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, R. E.; BERMAN, S. S. Trace element analysis of biological material following pressure digestion with nitric acid-hydrogen peroxide and microwave heating. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 4, 323-327, 1989.

23. SMITH, F. E.; ARSENAULT, E. A. Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry. **Talanta**, 43, 1207-1268, 1996.

24. SROGI, K. A Review: Application of Microwave Techniques for Environmental Analytical Chemistry. **Analytical Letters**, 39, 1261-1288, 2006.

25. MESTER, Z.; STURGEON, R. (Ed.), **Sample Preparation for Trace Element Analysis**. Amsterdam: Elsevier, 2003. 1338 p.

26. TAYLOR, M.; ATRI, S. S.; MINHAS, S. Evalueserve Analysis: Developments in Microwave Chemistry. **Chemistry World**, 1-50, 2005.

27. NÓBREGA, J. A.; PIROLA, C.; FIALHO, L. L.; ROTA, G.; DE CAMPOS JORDÃO, C. E. K. M. A.; POLLO, F. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? **Talanta**, 98, 272-276, 2012.

28. MULLER, C. C.; MULLER, A. L. H.; PIROLA, C.; DUARTE, F. A.; FLORES, E. M. M.; MULLER, E. I. Feasibility of nut digestion using single reaction chamber for further trace element determination by ICP-OES. **Microchemical Journal**, 116, 255-260, 2014.

29. MULLER, A. L. H.; OLIVEIRA, J. S. S.; MELLO, P. A.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Study and determination of elemental impurities by ICP-MS in active pharmaceutical ingredients using single reaction chamber digestion in compliance with USP requirements. **Talanta**, 136, 161-169, 2015.

30. PEREIRA, L. S. F.; PEDROTTI, M. F.; MICELI, T. M.; PEREIRA, J. S. F.; FLORES, E. M. M. Determination of elemental impurities in poly(vinyl chloride) by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, 152, 371-377, 2016.

31. DRUZIAN, G. T.; PEREIRA, L. S. F.; MELLO, P. A.; MESKO, M. F.; DUARTE, F. A.; FLORES, E. M. M. Rare earth element determination in heavy crude oil by USN-ICP-MS after digestion using a microwave-assisted single reaction chamber. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 31, 1185-1191, 2016.

32. MULLER, E. I.; SOUZA, J. P.; MULLER, C. C.; MULLER, A. L. H.; MELLO, P. A.; BIZZI, C. A. Microwave-assisted wet digestion with H_2O_2 at high temperature and pressure using single reaction chamber for elemental determination in milk powder by ICP-OES and ICP-MS. **Talanta**, 156–157, 232-238, 2016.

33. TSENG, C.; GARRAUD, H.; AMOUROUX, D.; DONARD, O.; DE DIEGO, A. Open focused microwave-assisted sample preparation for rapid total and mercury species determination in environmental solid samples. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, 20, 99-108, 1998.

34. VILANO, M.; RUBIO, R. Determination of arsenic species in oyster tissue by microwave-assisted extraction and liquid chromatography–atomic fluorescence detection. **Applied Organometallic Chemistry**, 15, 658-666, 2001.

35. GARCÍA-REY, R.; QUILES-ZAFRA, R.; DE CASTRO, M. L. New methods for acceleration of meat sample preparation prior to determination of the metal content by atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 377, 316-321, 2003.

36. TÖLG, G. Extreme trace analysis of the elements—I. **Talanta**, 19, 1489-1521, 1972.

37. NÓBREGA, J. A.; COSTA, L. M.; SANTOS, D. Preparo de amostras usando forno de microondas com radiação focalizada. **Analytica**, 1, 32-37, 2002.

38. CEM Star Technology. disponível em: http://www.cem.com/star-technology.html; acessado em 10/06/2016.

39. COSTA, L. M.; SILVA, F. V.; GOUVEIA, S. T.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Focused microwave-assisted acid digestion of oils: an evaluation of the residual carbon content. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 56, 1981-1985, 2001.

40. ARAUJO, G. C. L.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Single vessel procedure for acid-vapour partial digestion in a focused microwave: Fe and Co determination in biological samples by ETAAS. **Analyst**, 125, 1861-1864, 2000.

41. TREVIZAN, L. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Single vessel procedure for acid vapor partial digestion of bovine liver in a focused microwave: multielement determination by ICP-OES. **Talanta**, 61, 81-86, 2003.

42. ARAÚJO, L. G. C.; NOGUEIRA, A. A. R.; NÓBREGA, A. J. Microwave Single Vessel Acid-Vapor Extraction: Effect of Experimental Parameters on Co and Fe Determination in Biological Samples. **Microchimica Acta**, 144, 81-85, 2004.

43. FILI, S. P.; OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, P. V. On-line digestion in a focused microwave-assisted oven for elements determination in orange juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 14, 435-441, 2003.

44. NÓBREGA, J. A.; TREVIZAN, L. C.; ARAÚJO, G. C.; NOGUEIRA, A. R. A. Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 57, 1855-1876, 2002.

45. SANTOS, D. M.; PEDROSO, M. M.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. A new procedure for bovine milk digestion in a focused microwave oven: gradual sample addition to pre-heated acid. **Talanta**, 65, 505-510, 2005.

46. LAFUENTE, J. G.; DLASKA, M.; FERNÁNDEZ SÁNCHEZ, M.; SANZ-MEDEL, A. Organic and inorganic selenium speciation in urine by on-line vesicle mediated high-performance liquid chromotography–focused microwave digestion–hydride generation–inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 423-429, 1998.

47. CHAO, W.-S.; JIANG, S.-J. Determination of organotin compounds by liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry with a direct injection nebulizer. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 1337-1341, 1998.

48. GERBERSMANN, C.; HEISTERKAMP, M.; ADAMS, F. C.; BROEKAERT, J. C. Two methods for the speciation analysis of mercury in fish involving microwave-assisted digestion and gas chromatography-atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 350, 273-285, 1997.

49. LARSEN, E. H.; HANSEN, M.; GÖSSLER, W. Speciation and health risk considerations of arsenic in the edible mushroom Laccaria amethystina collected from contaminated and uncontaminated locations. **Applied Organometallic Chemistry**, 12, 285-291, 1998.

50. GÁMIZ-GRACIA, L.; DE CASTRO, M. L. Determination of mercury in cosmetics by flow injection-cold generation-atomic fluorescence spectrometry with on-line preconcentration. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 14, 1615-1617, 1999.

51. GAMIZ-GRACIA, L.; DE CASTRO, M. L. Determination of selenium in nutritional supplements and shampoos by flow injection-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, 50, 875-880, 1999.

52. FOURNIER, J.; VIGNIER, V.; RENAUD, P.; MARTIN, G. Element analysis carried out on reference samples. Comparison between five digestion techniques using wet and dry processes. **Analusis**, 25, 196-201, 1997.

53. MATUSIEWICZ, H. Development of a high pressure/temperature focused microwave heated Teflon bomb for sample preparation. **Analytical Chemistry**, 66, 751-755, 1994.

54. WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E.; STOEPPLER, M. Residues from biological materials after pressure decomposition with nitric acid: Part 3. Influence of reaction products on inverse voltammetric element determination. **Analytica Chimica Acta**, 226, 31-41, 1989.

55. LEVINE, K. E.; BATCHELOR, J. D.; RHOADES JR, C. B.; JONES, B. T. Evaluation of a high-pressure, high-temperature microwave digestion system. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 14, 49-59, 1999.

56. MATUSIEWICZ, H. Development of a high-pressure asher focused microwave system for sample preparation. **Analytical Chemistry**, 71, 3145-3149, 1999.

57. MATUSIEWICZ, H. New technology for in situ visualization, monitoring and controlling microwave chemical reaction progress using a focused microwave high pressure-temperature closed-vessel digestion system. **Analyst**, 134, 1490-1497, 2009.

58. LÉGÈRE, G.; SALIN, E. D. Capsule-based microwave digestion. **Applied Spectroscopy**, 49, 14A-22A, 1995.

59. SPERLING, K. R. **Determination of Cd traces in enviromental samples**. In: Welz, B. (Ed.) **Fortschritte in der Atomspektrometrischen Spurenanalytik**, 1984. p. 385-401.

60. CAMPOS, R. C. **Estudo de uma nova técnica de introdução de amostras sólidas combustíveis para determinação de elementos voláteis por espectrometria de absorção atômica com chama**, Tese de Doutorado, Pontifícia Universidade Católica Rio de Janeiro, 1988, 202 f.

61. FLORES, E. M. M. **Procedimento combinado para decomposição e determinação de elementos-traço por espectrometria de absorção atômica e desenvolvimento de gerador de hidretos em microescala**, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997, 156 f.

62. FLORES, E. M. M.; SAIDELLES, A. P. F.; SMANIOTO BARIN, J.; MORTARI, S. R.; FIGUEIREDO MARTINS, A. Hair sample decomposition using polypropylene vials for determination of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 16, 1419-1423, 2001.

63. RICHTER, R. C.; LINK, D.; KINGSTON, H. M. S. Microwave-Enhanced Chemistry. **Analytical Chemistry**, 73, 30 A-37 A, 2001.

64. MATUSIEWICZ, H. **Wet digestion methods**. In: Mester, Z., R. Sturgeon (Eds.), **Sample Preparation for Trace Element Analysis**, Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 193-233.

65. NÓBREGA, J. A.; DONATI, G. L. **Microwave-Assisted Sample Preparation for Spectrochemistry**. In: Meyers, R. A. (Ed.) **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, John Wiley & Sons, 2011. p. 16504.

66. DUGENEST, S.; OLLE, M.; RIBES, A.; GRENIER-LOUSTALOT, M. F. Chemical characterization of municipal solid waste incineration residue: Dissolution of elements with a microwave-dilute acids digestion technique compared to conventional methods. **Analusis**, 26, 256-260, 1998.

67. SORIANO, S.; PEREIRA NETTO, A. D.; CASSELLA, R. J. Multivariate optimization of a microwave-assisted leaching procedure using dilute acid solutions, for FAAS determination of Cu, Fe, Mn, and Zn in multivitamin/multimineral supplements. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 387, 1113-1120, 2007.

68. KNAPP, G.; PANHOLZER, F.; SCHALK, A.; KETTISCH, P. **Pressure-controled microwave-assisted wet digestion systems**. In: Kingston, H. M., S. J. Haswell (Eds.), **Microwave enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation, and applications**, Washington: American Chemical Society, 1997. p. 423-451.

69. ARAUJO, G. C. L.; GONZALEZ, M. H.; FERREIRA, A. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, 57, 2121-2132, 2002.

70. TREVIZAN, L. C.; DONATI, G. L.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. **Microwave-Assisted Procedures for Sample Preparation: Recent Developments**. In: Arruda, M. A. Z. (Ed.) **Trends in Sample Preparation**, New York: Nova Science Publishers, 2007. p. 29-52.

71. CASTRO, J. T.; SANTOS, E. C.; SANTOS, W. P. C.; COSTA, L. M.; KORN, M.; NOBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, 78, 1378-1382, 2009.

72. GONZALEZ, M. H.; SOUZA, G. B.; OLIVEIRA, R. V.; FORATO, L. A.; NOBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, 79, 396-401, 2009.

73. BIZZI, C. A.; NOBREGA, J. A.; BARIN, J. S.; OLIVEIRA, J. S. S.; SCHMIDT, L.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M. Effect of simultaneous cooling on microwave-assisted wet digestion of biological samples with diluted nitric acid and O_2 pressure. **Analytica Chimica Acta**, 837, 16-22, 2014.

74. COTTON, F. A.; WILKINSON, G.; MURILLO, C. A.; BOCHMANN, M. **Advanced Inorganic Chemistry**. 6 ed., New York: John Wiley & Sons, 1999. 1356 p.

75. ATKINS, P. W.; SHRIVER, D. F. **Química Inorgânica**. Porto Alegre: Bookman, 2008. 848 p.

76. BIZZI, C. A.; NOBREGA, J. A.; BARIN, J. B. **Diluted acids in microwave-assisted wet digestion**. In: Flores, E. M. M. (Ed.) **Microwave-assisted sample preparation for trace element determination**, Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 179-204.

77. BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; PICOLOTO, R. S.; BARIN, J. S.; NOBREGA, J. A. Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid. **Analytical Methods**, 2, 734-738, 2010.

78. BIZZI, C. A.; FLORES, E. L. M.; NOBREGA, J. A.; OLIVEIRA, J. S. S.; SCHMIDT, L.; MORTARI, S. R. Evaluation of a digestion procedure based on the use of diluted nitric acid solutions and H_2O_2 for the multielement determination of whole milk powder and bovine liver by ICP-based techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 332-338, 2014.

79. BIZZI, C. A.; BARIN, J. S.; GARCIA, E. E.; NOBREGA, J. A.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Improvement of microwave-assisted digestion of milk powder with diluted nitric acid using oxygen as auxiliary reagent. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, 66, 394-398, 2011.

80. BIZZI, C. A.; BARIN, J. S.; MULLER, E. I.; SCHMIDT, L.; NOBREGA, J. A.; FLORES, E. M. M. Evaluation of oxygen pressurized microwave-assisted digestion of botanical materials using diluted nitric acid. **Talanta**, 83, 1324-1328, 2011.

81. BANCROFT, W. D.; MURPHY, N. F. Oxidation and Reduction with Hydrogen Peroxide. **The Journal of Physical Chemistry**, 39, 377-398, 1934.

82. MATUSIEWICZ, H. Critical evaluation of the effectiveness of nitric acid oxidizing systems: Pressurized microwave-assisted digestion procedure. **Chemia Analityczna**, 46, 897-905, 2001.

83. GORSUCH, T. T. **The destruction of organic matter**. Oxford: Pergamon Press, 1970. 151 p.

84. BENDICHO, C.; PENA, F.; COSTAS, M.; GIL, S.; LAVILLA, I. Photochemistry-based sample treatments as greener approaches for trace-element analysis and speciation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 29, 681-691, 2010.

85. WALTER, P. J.; CHALK, S.; KINGSTON, H. M. **Overview of microwave-assisted sample preparation**. In: Kingston, H. M., S. J. Haswell (Eds.), **Microwave-enhanced chemistry: Fundamentals, sample preparation and applications**, Washington: American Chemical Society, 1997. p. 55-222.

86. BARBOSA, J. T. P.; SANTOS, C. M. M.; PERALVA, V. N.; FLORES, E. M. M.; KORN, M.; NOBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products. **Food Chemistry**, 175, 212-217, 2015.

87. BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; GARCIA, E. E.; NOBREGA, J. A. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, 99, 193-196, 2011.

88. ZISCHKA, M.; KETTISCH, P.; SCHALK, A.; KNAPP, G. Closed vessel microwave-assisted wet digestion with simultaneous control of pressure and temperature in all vessels. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, 361, 90-95, 1998.

89. POVONDRA, P.; SULCEK, Z. **Methods of decomposition in inorganic analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 336 p.

90. MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, R. E.; BERMAN, S. S. Vapour-phase acid digestion of inorganic and organic matrices for trace element analysis using a microwave heated bomb. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 6, 283-287, 1991.

91. MATUSIEWICZ, H. Acid vapour-phase pressure decomposition for the determination of elements in biological materials by flame atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 4, 265-269, 1989.

92. AMARASIRIWARDENA, D.; KRUSHEVSKA, A.; BARNES, R. M. Microwave-Assisted Vapor-Phase Nitric Acid Digestion of Small Biological Samples for Inductively Coupled Plasma Spectrometry. **Applied Spectroscopy**, 52, 900-907, 1998.

93. EILOLA, K.; PERÄMÄKI, P. Microwave heated vapor-phase digestion method for biological sample materials. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 369, 107-112, 2001.

94. WEAST, R. C. **Handbook of Chemistry and Physics**. Boca Raton: CRC Press, 1984. p. B-10 p.

95. OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 14, 174-182, 2003.

96. OLIVEIRA, P. V.; OLIVEIRA, E.; SHAN, T. C. **Microfrascos adaptados a um forno de microondas focalizadas como uma alternativa para a solubilização de amostras**, 11º Encontro Nacional de Química Analítica, Campinas, 2001.

97. BRESSANI, F. A. **Desenvolvimento de procedimento de digestão para óleos lubrificantes**, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 2005, 76 p.

98. WILTSCHE, H.; KNAPP, G. **Flow Digestion Systems With Microwave And Conductive Heating**. In: Flores, E. M. M. (Ed.) **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**, Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 253-280.

99. BURGUERA, M.; BURGUERA, J. L.; ALARCÓN, O. M. Determination of zinc and cadmium in small amounts of biological tissues by microwave- assisted digestion and flow injection atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 214, 421-427, 1988.

100. PEREIRA-FILHO, E. R.; ARRUDA, M. A. Mechanised flow system for on-line microwave digestion of food samples with off-line catalytic spectrophotometric determination of cobalt at ng l–1 levels. **Analyst**, 124, 1873-1877, 1999.

101. ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microonbdas: O estado da arte. **Química Nova**, 20, 638-643, 1997.

102. LUQUE-GARCÍA, J.; DE CASTRO, M. L. Where is microwave-based analytical equipment for solid sample pre-treatment going? **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 22, 90-98, 2003.

103. WILTSCHE, H.; TIRK, P.; MOTTER, H.; WINKLER, M.; KNAPP, G. A novel approach to high pressure flow digestion. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 272-279, 2014.

104. MARQUES, T. L.; WILTSCHE, H.; MOTTER, H.; NOBREGA, J. A.; KNAPP, G. High pressure microwave-assisted flow digestion system using a large volume reactor-feasibility for further analysis by inductively coupled plasma-based techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 1898-1905, 2015.

105. MARQUES, T. L.; WILTSCHE, H.; NÓBREGA, J. A.; WINKLER, M.; KNAPP, G. Performance evaluation of a high-pressure microwave-assisted flow digestion system for juice and milk sample preparation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 409, 4449–4458, 2017.

106. ALMEIDA, M. I. G. S.; SEGUNDO, M. A.; LIMA, J. L. F. C.; RANGEL, A. O. S. S. Multi-syringe flow injection system with in-line microwave digestion for the determination of phosphorus. **Talanta**, 64, 1283-1289, 2004.

107. LAGHA, A.; CHEMAT, S.; BARTELS, P., V.; CHEMAT, F. Microwave - ultrasound combined reactor suitable for atmospheric sample preparation procedure of biological and chemical products. **Analusis**, 27, 452-457, 1999.

108. CHEMAT, S.; LAGHA, A.; AIT AMAR, H.; CHEMAT, F. Ultrasound assisted microwave digestion. **Ultrasonics Sonochemistry**, 11, 5-8, 2004.

109. DOMINI, C.; VIDAL, L.; CRAVOTTO, G.; CANALS, A. A simultaneous, direct microwave/ultrasound-assisted digestion procedure for the determination of total Kjeldahl nitrogen. **Ultrasonics Sonochemistry**, 16, 564-569, 2009.

110. CANALS, A.; HIDALGO, M.; E., D. C.; CRAVOTTO, G. **Method and apparatus for direct irradiation of a liquid or solid sample with microwave or ultrasound irradiation simultaneously, consecutively of alternating** ES 2304839, A1 20081016, 2008.

111. RAGAINI, V.; PIROLA, C.; BORRELLI, S.; FERRARI, C.; LONGO, I. Simultaneous ultrasound and microwave new reactor: Detailed description and energetic considerations. **Ultrasonics Sonochemistry**, 19, 872-876, 2012.

112. American Society for Testing and Materials, D5513, **Standard practice for microwave digestion of industrial furnace feed streams and waste for trace element analysis**, 2015.

113. American Society for Testing and Materials, E1645, **Standard practice for preparation of dried paint samples by hotplate or microwave digestion for subsequent lead analysis**, 2016.

114. American Society for Testing and Materials, C1387, **Standard guide for the determination of technetium-99 in soil**, 2014.

115. American Society for Testing and Materials, C1463, **Standard practices for dissolving glass containing radioactive and mixed waste for chemical and radiochemical analysis**, 2013.

116. American Society for Testing and Materials, D4309, **Standard practice for sample digestion using closed vessel microwave heating technique for the determination of total metals in water**, 2012.

117. American Society for Testing and Materials, D7035, **Standard test method for determination of metals and metalloids in airborne particulate matter by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES)**, 2010.

118. American Society for Testing and Materials, D7303, **Standard test method for determination of metals in lubricating greases by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry**, 2012.

119. American Society for Testing and Materials, D7876, **Standard practice for practice for sample decomposition using microwave heating (with or without prior ashing) for atomic spectroscopic elemental determination in petroleum products and lubricants**, 2013.

120. American Society for Testing and Materials, F3139, **Standard test method for analysis of tin-based solder alloys for minor and trace elements using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry**, 2015.

121. American Society for Testing and Materials, C1347, **Standard practice for preparation and dissolution of uranium materials for analysis**, 2014.

122. United States Consumer Product Safety Commission, E1001, **Standard operating procedure for determining total lead (Pb) in metal children's products (including children's metal jewelry)**, 2012.

123. United States Consumer Product Safety Commission, E1002, **Standard operating procedure for determining total lead (Pb) in nonmetal children's products**, 2012.

124. United States Environmental Protection Agency, EPA 3015A, **Microwave assisted acid digestion of aqueous samples and extracts**, 2007.

125. United States Environmental Protection Agency, EPA 3052, **Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices**, 1996.

126. Farmacopeia Brasileira. **Ensaio limite para metais pesados**. Capítulo 5.3.2.3, 5ª Edição ed., Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2010. 546 p.

127. WEBB, S.; BARTOS, J.; BOLES, R.; HASTY, E.; THUOTTE, E.; THIEX, N. J. Simultaneous determination of arsenic, cadmium, calcium, chromium, cobalt, copper, iron, lead, magnesium, manganese, molybdenum, nickel, selenium, and zinc in fertilizers by microwave acid digestion and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry detection: Single-laboratory validation of a modification and extension of AOAC 2006.03. **Journal of AOAC International**, 97, 700-711, 2014.

128. DUBASCOUX, S.; NICOLAS, M.; RIME, C. F.; PAYOT, J. R.; POITEVIN, E. Simultaneous determination of 10 ultratrace elements in infant formula, adult nutritionals, and milk products by ICP/MS after pressure digestion: single-laboratory validation. **Journal of AOAC International**, 98, 953-961, 2015.

129. JULSHAMN, K.; THORLACIUS, A.; LEA, P. Determination of arsenic in seafood by electrothermal atomic absorption spectrometry after microwave digestion: NMKL Collaborative Study. **Journal of AOAC International**, 83, 1423-1428, 2000.

130. BIZZI, C.; PEDROTTI, M. F.; SILVA, J. S.; BARIN, J. S.; NÓBREGA, J. A.; FLORES, E. M. M. Microwave-assisted digestion methods: towards greener approaches for plasma-based analytical techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 32, 1448-1466, 2017.

131. BOCCA, B.; ALIMONTI, A.; FORTE, G.; PETRUCCI, F.; PIROLA, C.; SENOFONTE, O.; VIOLANTE, N. High-throughput microwave-digestion procedures to monitor neurotoxic elements in body fluids by means of inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 377, 65-70, 2003.

Capítulo II

DECOMPOSIÇÃO DE MATERIAIS ORGÂNICOS POR COMBUSTÃO

Érico Marlon de Moraes Flores
Éder Lisandro de Moraes Flores
José Neri Gottfried Paniz
Juliano Smanioto Barin
Márcia Foster Mesko
Francisco José Krug

11.1. INTRODUÇÃO

A determinação elementar em amostras de natureza orgânica ainda constitui um grande problema analítico pois, normalmente, é necessária a transformação dos analitos presentes na matriz em uma forma inorgânica simples. Na maioria dos casos, após a decomposição, os elementos de interesse ficam dissolvidos em uma solução aquosa. Todavia, apesar dos avanços recentes dos sistemas comerciais de decomposição de amostras, a decomposição de diversas matrizes ainda apresenta limitações.

Em geral, a amostra original não é adequada para análise direta sem pré-tratamento, pelas seguintes razões:

a) O elemento a ser determinado pode estar na forma de complexos com os demais componentes presentes na amostra;
b) O elemento a ser determinado não está livre e/ou dissolvido em solução, o que é um requisito para a maioria das técnicas de determinação (espectroanalíticas, eletroanalíticas, cromatografia de íons, entre outras);
c) Pode ocorrer a formação de emulsão, espuma ou precipitado durante a análise;
d) A cor da amostra interfere em determinações por espectrometria de absorção molecular e turbidimetria (soro sanguíneo, ácido húmico em águas naturais, sucos de frutas, vinhos tintos, efluentes industriais, por exemplo);
e) Em tecidos biológicos, os elementos podem estar presentes em formas químicas diversas; algumas não mostram qualquer sinal durante as medidas, enquanto outras fornecem sinais com diferentes intensidades; a decomposição transforma o analito em uma forma química simples, com uma resposta uniforme;
f) A heterogeneidade é uma propriedade típica de muitos materiais biológicos, que pode afetar a confiabilidade dos resultados; a possibilidade de empregar uma quantidade maior de amostra, a qual resulta em uma solução representativa, após a decomposição, ajuda a superar este problema.

Após compreender a necessidade de converter os elementos da matriz orgânica em uma forma adequada à análise (geralmente formas inorgânicas são mais comuns), a etapa seguinte é avaliar como isso pode ser feito. De alguma forma,

os métodos envolvendo a destruição completa da matriz orgânica mantêm certa similaridade com os métodos convencionais de dissolução de amostras inorgânicas, onde *decomposições químicas drásticas,* isto é, empregando-se condições de temperatura e pressões elevadas combinadas ao uso de reagentes concentrados, são comuns.

Entretanto, dependendo do tipo de matriz, a decomposição de diversas amostras orgânicas empregando métodos por via úmida pode ser uma tarefa difícil. Como exemplos, podem ser citadas as amostras contendo carbono (*e.g.* petróleo e seus derivados, polímeros, nanotubos de carbono, grafite). A decomposição adequada destas matrizes é restrita devido à elevada resistência ao ataque de ácidos concentrados, mesmo sob elevada temperatura. Mesmo empregando ácidos com alto poder oxidante como ácido nítrico concentrado (ácido perclórico deve ser evitado em vista dos riscos à segurança do analista) a decomposição é incompleta, inviabilizando a análise subsequente. Contudo, em muitos casos, estas matrizes podem ser facilmente decompostas empregando métodos de combustão, tanto em sistemas fechados como em sistemas abertos.

Sob esse aspecto, a combustão ainda é o modo mais efetivo, conveniente e, talvez, o mais antigo para a decomposição de materiais orgânicos. Os sistemas de combustão permitem a conversão de carbono e hidrogênio em seus correspondentes produtos de oxidação, majoritariamente dióxido de carbono e água, respectivamente. Considerando a elevada temperatura atingida, praticamente todas as matrizes orgânicas podem ser decompostas durante a combustão e, desta forma, interferências menos significativas são esperadas nas análises. Além disso, cabe enfatizar o crescente interesse na determinação de não-metais, especialmente, halogênios, em matrizes diversas (*e.g.* tecidos biológicos, polímeros) e, nestes casos, infelizmente, os métodos convencionais de digestão por via úmida não são completamente adequados para este tipo de análise.

É importante mencionar que, apesar de possuírem algumas limitações, os métodos de decomposição por combustão apresentam algumas vantagens frente a outros métodos, tais como aqueles baseados na via úmida com ácidos concentrados, como por exemplo:

1. a decomposição da matriz orgânica é praticamente completa, tanto empregando sistemas fechados como abertos;
2. as soluções resultantes apresentam baixa acidez, pois normalmente soluções diluídas são utilizadas;

3. massas relativamente elevadas, *e.g.* 5 ou 10 g, podem ser decompostas (sistemas abertos);
4. matrizes orgânicas com elevada estabilidade (*e.g.* grafite) podem ser decompostas rapidamente;
5. métodos de combustão em sistema fechado são considerados como uma das melhores alternativas atuais quando se almeja a determinação posterior de elementos que formam compostos voláteis como, por exemplo, halogênios.

O processo de combustão origina-se da interação de fenômenos físicos e químicos. Assim, pode ser destacada a ocorrência de reações exotérmicas, a emissão de luz e a formação de ondas de choque. Ocorrem, ainda, os fenômenos de transporte de matéria e energia, como a condução de calor e a difusão das espécies químicas. Um sistema simples de combustão pode ser aquele que ocorre com materiais pré-misturados em forma gasosa, sendo aquecido lentamente em um sistema fechado. Se a temperatura fornecida não ultrapassar um determinado valor, o calor produzido pela reação será dissipado através das paredes do recipiente.[1] Entretanto, quando este valor é ultrapassado, dependendo das propriedades físicas dos reagentes e do recipiente, a taxa de liberação de energia, oriunda da reação, pode afetar a taxa de perda através das paredes do recipiente. Se isso acontecer, consequentemente a temperatura irá aumentar, aumentando a velocidade da reação e a taxa de liberação de energia da reação. Assim, a reação será acelerada indefinidamente (de acordo com o suprimento adequado de reagentes), podendo acarretar em ignição ou até mesmo uma explosão.

O uso de métodos de combustão remonta aos trabalhos de Lavoisier e envolve duas possibilidades principais: *i*) a volatilização de elementos, *e.g.* Hg e halogênios, que são coletados por uma solução absorvedora adequada, normalmente bases ou ácidos diluídos e *ii*) a decomposição da matriz orgânica quando os elementos não-voláteis (*e.g.* Al, Fe, Ni) permanecem, principalmente, na cinza e podem ser posteriormente dissolvidos.

As reações de combustão são baseadas na decomposição de matrizes orgânicas pela reação com oxigênio, geralmente sob altas temperaturas ou pela ação de radicais oxigênio ou oxigênio excitado em plasmas em temperaturas relativamente baixas. Nestes sistemas, os processos de oxidação (e de pirólise) ocorrem usando ar ou oxigênio. Portanto, poucos riscos de contaminação podem ser esperados, pois

oxigênio comercial pode ser encontrado em pureza relativamente elevada e adequado para a determinação de elementos em baixas concentrações.[2]

De um modo geral, os sistemas de combustão envolvem a reação entre substâncias combustíveis e oxidantes com a produção de calor e a conversão de espécies químicas em substâncias mais simples como, principalmente, dióxido de carbono e água. As substâncias orgânicas são o combustível (*e.g.* proteínas, hidrocarbonetos), e o oxidante é, normalmente, ar atmosférico ou oxigênio. Devido a sua exotermicidade, as reações de combustão são geralmente acompanhadas de chamas e emissão de luz. A combustão em sistemas abertos (*e.g.* empregando muflas) permite que a matriz orgânica seja oxidada se oxigênio é continuamente fornecido para a reação.

A equação geral de reações de combustão pode ser descrita como:[3]

$$C_xH_{2y} + [O_2] \rightarrow xCO_{2(g)} + yH_2O_{(l)} + \text{energia}$$

Reações de pirólise ocorrem durante as reações de combustão e, também, contribuem para a decomposição da matriz orgânica. No caso de falta de oxigênio, a combustão ocorre de maneira incompleta e é normalmente acompanhada da formação de carbono amorfo (fuligem nas superfícies sólidas ou em suspensão). A temperatura atingida (e pressão, no caso de sistemas fechados) nas reações de combustão é dependente, entre outros fatores, da massa de amostra, do calor de combustão da substância orgânica e da razão entre oxigênio e combustível. Temperaturas mais elevadas podem ser observadas em sistemas pressurizados com oxigênio em que a reação é rápida e com intensa liberação de calor. Outro aspecto que precisa ser observado é a quantidade de gases liberados durante a reação, pois isto afeta a massa máxima de amostra que pode ser decomposta, bem como a pressão máxima suportada pelo sistema, especialmente em sistemas fechados.

A ignição é, geralmente, a etapa inicial para reações de combustão. Esse processo ocorre quando uma reação de oxidação é acelerada e os reagentes são rapidamente consumidos, sendo comum a emissão de luz.[1] No caso de sistemas fechados, se a taxa de energia liberada pelas reações exceder a taxa que o calor pode ser dissipado para as paredes do frasco de reação e para a fase gasosa, a temperatura aumenta, acelerando a velocidade da reação e aumentando ainda mais a taxa de

energia liberada.[4,5] Dessa forma, a taxa de reação aumenta indefinidamente, resultando em um aumento rápido de pressão com uma rápida auto-aceleração da reação. Após a ignição, a reação irá continuar até o suprimento de reagentes terminar. Há diversos procedimentos para causar a ignição e alguns deles serão discutidos nas seções seguintes.

Os sistemas de combustão têm sido usados desde o trabalho pioneiro de Lavoisier que primeiro sugeriu as reações de combustão para fins analíticos. Neste capítulo, será apresentada uma breve descrição da evolução dos sistemas de combustão e as principais características de cada sistema. Considerando a evolução dos sistemas de combustão e as tendências mais recentes, maior ênfase será dada à combustão em sistema fechado com o uso de radiação micro-ondas, que apresentam diversas vantagens frente aos demais sistemas. Também serão apresentados os desenvolvimentos recentes e as aplicações para diversos tipos de amostras e analitos.

Cabe mencionar que, muitas vezes, os termos "via seca" e "combustão" são utilizados para caracterizar os métodos de decomposição descritos nesse capítulo, mesmo aqueles em que uma chama não seja claramente visível. Contudo, não há consenso sobre o melhor termo a ser empregado. Assim, nesse capítulo, optou-se por usar o termo *combustão* de maneira abrangente, cobrindo todos os métodos aqui descritos. Essa escolha foi baseada na classificação dos métodos de decomposição proposta por Knapp,[6] tendo em vista sua extensa contribuição no estabelecimento de pelo menos três sistemas de combustão descritos a seguir.

11.2. COMBUSTÃO EM FORNOS TIPO MUFLA

11.2.1. Introdução

Este é, provavelmente, o sistema mais simples para a decomposição de amostras de natureza orgânica. Este método está baseado na queima da fração orgânica da amostra com o oxigênio do ar, onde um resíduo inorgânico, na forma de cinzas, é obtido. Geralmente, este resíduo é solúvel em ácido diluído. A amostra é colocada em um cadinho (geralmente de porcelana) e aquecida em atmosfera ambiente até que todo o material orgânico seja queimado, resultando apenas em

um resíduo inorgânico não volátil. Pode-se usar uma tampa no cadinho para diminuir o risco de projeção de partículas no caso de uma combustão mais turbulenta. O oxigênio atmosférico atua como agente oxidante e o resíduo proveniente da queima consiste de óxidos de metais, além de sulfatos não voláteis, fosfatos, silicatos, etc. Para este método, há diversas referências na literatura que podem ser consultadas para mais detalhes e peculiaridades.[7-10]

Apesar desse método ser relativamente simples, há sérias limitações, uma vez que alguns elementos podem ser convertidos em formas voláteis[10] e, parcialmente ou completamente, perdidos. Essas perdas por volatilização tornam-se mais severas quanto mais alta for a temperatura usada para a decomposição (Tabela 11.1). Por outro lado, se não for usada uma temperatura suficientemente elevada, a amostra não será decomposta por completo, dando origem a resultados inexatos.

O procedimento de decomposição é, normalmente, conduzido em um forno tipo mufla, com ajuste da temperatura a um valor suficientemente elevado para decompor a amostra em um período de tempo razoável, sem que ocorram perdas do analito na forma de espécies voláteis. A temperatura conveniente para a pirólise da matéria orgânica situa-se, frequentemente, entre 450 e 550 °C.

Em vista dos problemas de perdas por volatilização, a decomposição por via seca em cadinho é aplicável somente para elementos metálicos, visto que a maioria dos não metais é convertida a produtos voláteis. É conveniente recordar que o método do tubo de combustão é aplicável para não metais, sendo necessária a completa volatilização dos elementos (vide Seção 11.3). Logo, sob esta óptica, estes dois primeiros métodos de combustão são complementares: o método do tubo de combustão é adequado para não metais com derivados voláteis, e a decomposição por combustão em forno tipo mufla para a maioria dos metais. Entre os elementos que são propensos às perdas por volatilização em fornos do tipo mufla podem ser destacados F, Cl, Br, I, Se, P, As, Sb, Ge, Tl e Hg.

Às vezes, um elemento é mais propenso à perda por volatilização se determinadas espécies estiverem presentes na matriz. Em matrizes muito salinas, o íon cloreto (*e.g.* proveniente do sal adicionado às amostras de alimentos) pode reagir com metais formando cloretos voláteis. O chumbo e o cádmio são facilmente perdidos desta maneira, como $PbCl_2$ e $CdCl_2$.

Outra fonte de erro é que a amostra pode reagir com o material do cadinho. Neste caso, a extensão desta perda depende da temperatura, do material do

Tabela 11.1. Perdas de elementos durante a decomposição de materiais orgânicos por combustão em forno tipo mufla à pressão atmosférica.[11] Reproduzida com permissão da IAEA - International Atomic Energy Agency.

Elemento	Matriz	Temperatura (ºC)	Tempo (h)	% perdas
Ag	fígado de animal	450	-	< 5
	rim de animal	450	-	< 20
Al	fígado de animal	450	-	16
	rim de animal	450	-	12
As	sangue animal (seco)	850	16	35
	sangue animal (seco)	550	16	29
	sangue animal (seco)	450	16	28
Ba	rim de animal	450	-	4
Ca	tecido nervoso	420	16	< 1
	tecido nervoso	600	16	< 1
	tecido nervoso	711	16	< 1
Cd	fígado de animal	450	-	< 0,7
	fígado de animal	600	16	1,6
	fígado de animal	500	16	2
	rim de animal	500	16	4,4
Co	molusco	450	-	26
	molusco	800	-	22
Cr	açúcar refinado	450	-	63
	açúcar mascavo	450	-	62
	açúcar não refinado	450	-	86
	melaço	450	-	89
	fígado de rato	700	16	2,2
	fígado de rato	500	16	6,1
	sangue de rato	700	16	51
	sangue de rato	500	16	4
Cu	rim de animal	450	-	0,4
	fígado de animal	450	-	0,2
Fe	rim de animal	450	-	0,1
	fígado de animal	500	16	-
	sangue de animal	500	16	0,4
Hg	peixe (inteiro)	110	24	81

Tabela 11.1. Perdas de elementos durante a decomposição de materiais orgânicos por combustão em forno tipo mufla à pressão atmosférica.[11] Reproduzida com permissão da IAEA - International Atomic Energy Agency.(cont.)

Elemento	Matriz	Temperatura (ºC)	Tempo (h)	% perdas
K	tecido nervoso	420	16	< 1
	tecido nervoso	600	16	55
	tecido nervoso	710	16	90
Mn	molusco	450	-	15
	molusco	800	-	21
Mo	rim de animal	450	-	< 1,5
	fígado de animal	450	-	< 0,4
Na	tecido nervoso	420	16	< 3
	tecido nervoso	600	16	10
	tecido nervoso	710	16	20
Ni	rim de animal	450	-	< 15
	fígado de animal	450	-	3
Pb	tecido nervoso	600	16	< 5
	tecido nervoso	710	16	40
Sn	rim de animal	450	-	< 0,3
	fígado de animal	450	-	< 11
Sr	rim de animal	450	-	< 0,5
	fígado de animal	450	-	< 2,5
	sangue de boi	450	16	9
	ossos de rato	450	16	< 0,5
	sangue de rato	450	16	16
	rim de rato	450	16	5
Zn	molusco	450	-	33
	molusco	800	-	44
	alga marinha	1000	16	-
	mexilhão	500	16	-
	mexilhão	1000	16	-
	sangue de boi	850	16	-
	sangue de rato	700	16	1
	rim de animal	450	-	< 1
	fígado de animal	700	16	1,1

cadinho e da composição da amostra. Se o cadinho for de porcelana ou sílica, o elemento pode reagir e ficar aderido nas paredes do recipiente. Silicatos, fosfatos e

óxidos combinam-se facilmente com o esmalte dos cadinhos de porcelana e, por esta razão, é preferível trabalhar com cadinhos de quartzo ou de platina. Entretanto, apesar destes problemas potenciais, a decomposição por via seca tem sido usada em muitas análises devido à simplicidade. Em muitos procedimentos, nenhum reagente é utilizado, exceto o O_2 do ar, minimizando os riscos de contaminação se o ar no interior da mufla for de boa qualidade.

11.2.2. Uso de aditivos

Em muitos casos, os procedimentos de decomposição são mais eficientes quando alguns aditivos são misturados com a amostra antes de ser decomposta. Decomposições por combustão em fornos tipo mufla, quando acompanhadas por outros reagentes, além do oxigênio do ar, servem para vários propósitos:

a) acelerar a oxidação;
b) prevenir a volatilização de certos componentes das cinzas;
c) prevenir reações entre os componentes da cinza e o material do cadinho.

Os aditivos mais comuns são oxidantes, como o ácido nítrico ou um nitrato, este último sendo adicionado como solução concentrada em água (ou em metanol ou etanol, quando nitrato de magnésio for adicionado para assistir à oxidação de substâncias gordurosas). A alíquota da amostra é, então, seca no cadinho ou na cápsula, antes de ser introduzida ao forno para decomposição. Além de auxiliar na oxidação, a adição de nitrato ajuda a desprender as cinzas durante o processo de combustão.

O ácido nítrico também pode ser adicionado no início do procedimento de decomposição, tornando a decomposição da matéria orgânica mais rápida, uma vez que parte desta pode ser parcialmente decomposta com o ácido. O ácido nítrico não deve ser empregado quando baixas concentrações de estanho forem determinadas em materiais biológicos, pois o ácido estânico resultante pode reagir com os cadinhos de sílica.

A perda por volatilização também pode ser evitada, em alguns casos, pela adição de ácido sulfúrico: os cloretos relativamente voláteis, tais como $PbCl_2$ e $CdCl_2$, são convertidos em sulfatos não voláteis, e alguns complexos organometálicos voláteis são destruídos, como os compostos de vanádio-porfirina. A adição de

ácido sulfúrico é um procedimento ainda recomendado por diversas farmacopeias para a decomposição de fármacos. Entretanto, este procedimento deve ser avaliado com cuidado para o caso de elementos voláteis.[12]

Por outro lado, as perdas de ânions, como cloretos e ânions contendo arsênio, fósforo e boro, podem ser evitadas pela adição de algumas bases, geralmente óxidos e hidróxidos de metais alcalinos ou alcalino-terrosos, carbonatos de metais alcalinos, nitratos de metais alcalino-terrosos e acetato de magnésio. Na Tabela 11.2 estão resumidas as principais vantagens e desvantagens dos métodos de decomposição por combustão em forno tipo mufla em sistemas abertos.

Tabela 11.2. Vantagens e desvantagens da decomposição por combustão em forno tipo mufla em sistemas abertos.

Vantagens	Desvantagens
• relação entre massa de amostra e volume final muito flexível;	• perdas de elementos por volatilização;
• não requer atenção constante do operador;	• perdas de amostra como aerossol sólido ou por projeção;
• não requer uso de ácidos concentrados;	• perdas de amostra como espuma;
• não requer capelas especiais;	• alto risco de contaminação;
• digerido em meio compatível com método de determinação.	• algumas cinzas são de difícil dissolução.

Em síntese, a decomposição por via seca em mufla é um dos procedimentos mais simples para o preparo de amostras, onde a decomposição das amostras orgânicas ocorre através da combustão e/ou pirólise em uma mufla, normalmente com temperaturas entre 450 °C e 550 °C.[13] O equipamento empregado é simples e barato, podendo ser utilizados béqueres e cadinhos de porcelana, quartzo, platina e zircônio. Grandes quantidades de amostra (> 10 g) podem ser decompostas, exigindo relativamente pouca atenção do analista durante o processo, particularmente em muflas com rampas de aquecimento. Existem muflas com capacidade para grande número de cadinhos, propiciando maior produtividade. A diluição da amostra pode ser pequena, uma vez que o resíduo pode ser reconstituído em um pequeno volume de um ácido inorgânico, HCl ou HNO_3, diluído. Os teores de matéria orgânica residual normalmente encontrados são extremamente baixos (< 0,5%).

Apesar de existirem resultados contraditórios na literatura, a perda de elementos por volatilização pode ser significativa. Mercúrio é volátil em grande parte de suas formas químicas, o mesmo ocorrendo com As, Sb, Sn, Ge, Se, porém, em menor proporção. Além disso, Cd, Pb, Zn e Co são voláteis como cloretos ou brometos em temperaturas elevadas.[14] Para solucionar este problema, podem ser utilizados aditivos, tais como nitratos e sulfatos, produzindo sulfatos e/ou nitratos dos elementos de interesse menos voláteis ou, ainda, eliminando os cloretos como NOCl ou HCl. Porém, se ácido nítrico e/ou ácido sulfúrico ou alguns nitratos e sulfatos forem introduzidos no sistema, a possibilidade de contaminação aumenta se os ácidos ou sais não forem de alta pureza. Perdas também podem ocorrer através da retenção dos elementos no recipiente de decomposição. Além disso, muitas vezes pode ocorrer a formação de silicatos por reação de óxidos de alguns elementos com vidro ou quartzo. Cadinhos de platina podem formar ligas com metais nobres.

Um aspecto muito importante a ser observado é quando o aumento da temperatura for feito muito rapidamente (> 50 °C h^{-1}), podendo haver perdas da amostra por projeção ou ignição[15] e este é um fator a ser observado neste tipo de decomposição. Alguns problemas como contaminação e dificuldades associadas ao lento aquecimento de sistemas tradicionais de decomposição por via seca, como as muflas, podem ser resolvidos. Atualmente, o mercado de instrumentação de laboratórios oferece muflas com sistema de aquecimento realizado através de radiação micro-ondas, onde carbeto de silício ou grafite são empregados, por apresentarem altíssima capacidade de absorção da radiação micro-ondas, com uma elevada taxa de aquecimento. Além disso, com este sistema, o ambiente inadequado de certos sistemas tradicionais é evitado, minimizando a contaminação (Figura 11.1).[16,17]

11.3. DECOMPOSIÇÃO EM TUBO DE COMBUSTÃO

O método do tubo de combustão tem sido usado nos últimos cem anos para análises de rotina de compostos orgânicos e subsequente determinação de carbono, hidrogênio, oxigênio, enxofre e halogênios. A análise elementar (em especial para C, H e N) tem sido muito usada como uma das ferramentas para a caracte-

Figura 11.1. Forno do tipo mufla com aquecimento por radiação micro-ondas.[17] Reproduzida com permissão da Milestone Srl.

rização de diversos materiais. Atualmente, a grande maioria dos laboratórios, que utiliza este sistema em análises de rotina, emprega analisadores automatizados.

Este método está baseado na oxidação completa da amostra, onde os elementos a serem determinados são convertidos em uma forma volátil. Isso é feito dentro de um tubo, através do qual passa um gás, de tal maneira que os produtos voláteis da oxidação sejam levados até dispositivos para coleta e posterior determinação.

Na Figura 11.2 é apresentada uma representação esquemática de um aparelho simples para a determinação de carbono e hidrogênio em compostos orgânicos.

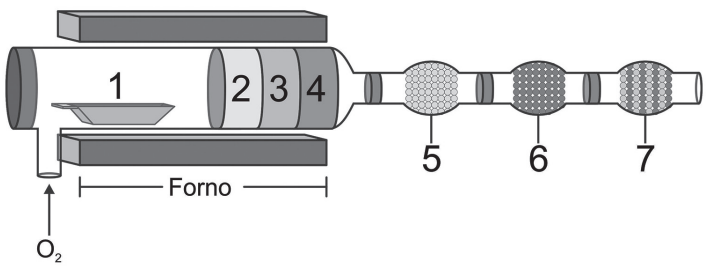

Figura 11.2. Tubo de combustão para determinação de carbono e hidrogênio **(1)** Recipiente de porcelana para amostra; **(2)** Tubo contendo catalisador de platina; **(3)** Tubo preenchido com CuO; **(4)** Tubo contendo mistura de PbO_2 e $PbCrO_4$ + Ag; **(5)** Tubo contendo um material dessecante; **(6)** Tubo contendo ascarita; **(7)** Tubo de proteção contendo dessecante. Adaptado de Anderson, 1991.[7]

As etapas que ocorrem durante a decomposição de amostras utilizando o tubo de combustão podem ser descritas como segue:[7]

a) A amostra, previamente pesada, é colocada em um recipiente de porcelana, que é aquecido a temperaturas elevadas em um tubo, geralmente de quartzo;
b) Uma corrente de oxigênio (ou ar purificado, livre de CO_2 e vapor de H_2O) passa pela amostra;
c) A amostra é queimada (ou pirolisada) e os produtos da oxidação (ou da pirólise) são carreados pelo oxigênio para um catalisador de platina, cuja função é facilitar a oxidação da matriz. Considera-se que a amostra seja completamente vaporizada por este processo;
d) Em seguida, os produtos da oxidação passam sobre uma fina camada de CuO aquecido para completar a oxidação. Considera-se que, após essa etapa, a oxidação seja completa e que todo o carbono e hidrogênio da amostra tenham sido convertidos a CO_2 e H_2O, respectivamente;
e) Os gases passam, então, sobre uma mistura quente de PbO_2 (para reter os óxidos de nitrogênio) mais $PbCrO_4$ e Ag (para reter os compostos sulfurosos e halogenados). Estas espécies voláteis, caso não sejam removidas, podem interferir nas determinações de carbono e hidrogênio;
f) Nessa etapa, os gases (*e.g.* O_2, CO_2 e H_2O) deixam o tubo de combustão e passam através de dois tubos absorvedores. O primeiro tubo contém um dessecante para absorção de H_2O. O segundo tubo contém ascarita (uma mistura apropriada de KOH e asbesto) mais um dessecante extra para absorver o CO_2 (a presença do dessecante faz-se necessária porque H_2O é desprendida quando ascarita absorve o CO_2);
g) Finalmente, o oxigênio passa através de um tubo de proteção contendo dessecante e ascarita para impedir a interferência de H_2O e CO_2 da atmosfera na análise.

O arranjo clássico do tubo de combustão pode ser modificado para determinar outros elementos, como nitrogênio, oxigênio, enxofre e halogênios.

Nitrogênio

A amostra, previamente pesada, é misturada com CuO (agente oxidante) em pó e colocada no recipiente de porcelana. Uma corrente de CO_2 flui sobre o

recipiente e a amostra é aquecida. O carbono é oxidado a CO_2, hidrogênio a H_2O e o nitrogênio a N_2 (mais alguns óxidos de nitrogênio).

Os gases passam através de limalhas de cobre metálico, que reduz os óxidos de nitrogênio a N_2. Os gases são, então, borbulhados em uma solução concentrada que absorve o excesso de CO_2, vapor de H_2O e quaisquer outros produtos gasosos, exceto o N_2, o qual é coletado em uma bureta de gás, que é um dispositivo que mede o volume do gás produzido nas condições padrão de temperatura e pressão. No caso, a medida analítica é justamente o volume de N_2 produzido. É interessante observar que o CO_2 é usado somente como gás de arraste sendo, posteriormente, absorvido na solução de KOH juntamente com outros gases. O N_2 deve ser o único gás saindo do tubo de combustão e, por isso, o O_2 que não é retido na solução de KOH não é usado como oxidante.

Oxigênio

Quando for necessária a determinação de oxigênio com tubo de combustão, a amostra deve ser submetida a uma reação de redução, e não de oxidação, pois é o oxigênio que se deseja determinar. A estratégia é misturar a amostra com carbono em pó (agente redutor) e aquecer a mistura em um recipiente de porcelana na presença de H_2 fluindo com uma vazão apropriada. O oxigênio é convertido a CO, o qual passa sobre I_2O_5 sólido, ocorrendo a seguinte reação:

$$5\ CO_{(g)} + I_2O_{5(s)} \rightarrow 5\ CO_{2(g)} + I_{2(g)}$$

O I_2 gasoso é absorvido em uma solução adequada e titulado. Uma solução de KI pode ser utilizada, onde o íon triiodeto é formado e, posteriormente, titulado com solução de $Na_2S_2O_3$.

Enxofre

A amostra é oxidada em uma corrente de oxigênio sobre um catalisador de platina aquecido ao rubro, formando óxidos de enxofre que são convertidos em H_2SO_4, o qual pode ser titulado com álcali padrão ou determinado gravimetricamente como $BaSO_4$.

$$SO_3 + H_2O \rightarrow H_2SO_4$$

$$SO_2 + H_2O_2 \rightarrow H_2SO_4$$

Halogênios (exceto flúor)

Tal como na determinação de enxofre, a amostra também é oxidada em uma corrente de oxigênio sobre um catalisador de platina aquecido ao rubro. Os halogênios são convertidos em uma mistura dos elementos livres e dos haletos de hidrogênio correspondentes (pode ocorrer, também, pequena formação de oxihaletos). Os gases são borbulhados em uma solução de Na_2SO_3 para absorver os produtos de combustão e reduzir todos os halogênios e oxihaletos em haletos, os quais poderão ser determinados por técnicas apropriadas (*e.g.* gravimetricamente como haleto de prata).

Finalmente, convém comentar que, atualmente, existem analisadores automatizados para a determinação de C, H e N, nos quais as análises podem ser concluídas em cerca de 15 minutos, sem a necessidade de intervenção do operador. Para a determinação de halogênios, existem outros métodos de decomposição apropriados para vários tipos de amostras orgânicas, os quais serão detalhados nas próximas seções deste capítulo.

11.4. DECOMPOSIÇÃO EM BAIXAS TEMPERATURAS COM PLASMA DE OXIGÊNIO

Conforme comentado anteriormente, as duas principais causas de erros sistemáticos na decomposição de amostras orgânicas por combustão em fornos tipo mufla são as perdas por volatilização e as perdas do analito pela interação com o cadinho. Ambas as causas de erro seriam menos severas se essas decomposições pudessem ser feitas em temperaturas inferiores a 500 °C, ou somente na temperatura necessária para oxidar completamente a matriz orgânica.

É possível decompor amostras em baixas temperaturas, utilizando o poder oxidante de um plasma contendo radicais oxigênio e oxigênio excitado. Neste caso, o plasma é produzido em um sistema à baixa pressão de oxigênio através de um campo de radiofrequência ou radiação micro-ondas. A amostra é posicionada no interior de um sistema, onde as espécies não reativas de oxigênio e ozônio são retiradas através da sucção realizada por uma bomba de vácuo. Para evitar a perda de

elementos voláteis, geralmente é utilizado um sistema de resfriamento com circulação de água. O calor produzido é proveniente das reações de oxidação exotérmicas sendo que, normalmente, não ultrapassa 150 °C, sendo este método, portanto, chamado de decomposição à baixa temperatura. Uma característica importante é que, como a reação ocorre entre um sólido e um gás, a decomposição depende do contato da amostra com o plasma e, desta forma, a área superficial da amostra é um parâmetro relevante.

Assim, por exemplo, quando uma corrente de oxigênio puro a uma baixa pressão, na faixa de 1 a 5 Torr, passa através de um campo de radiofrequência, o oxigênio converte-se em "oxigênio excitado", ou plasma de oxigênio. Este plasma consiste de uma mistura de átomos, íons e de moléculas de oxigênio nos estados fundamental e excitado, com um tempo de vida de aproximadamente 1 s, e apresenta altíssima reatividade. Após esse tempo, o "oxigênio excitado" é reconvertido ao seu estado molecular.

Entretanto, apesar deste tipo de sistema ser muito eficiente para diversas matrizes, a sua comercialização foi descontinuada e sistemas deste tipo são citados neste capítulo com a finalidade de apresentar os desenvolvimentos prévios. Dentre estes, pode-se citar o sistema apresentado na Figura 11.3, conhecido como LTA (do inglês "*Low Temperature Ashing*"), que opera em uma frequência de 13,5 MHz e potência de até 300 W. Algumas versões utilizaram micro-ondas com frequência de 2450 MHz e potência de até 200 W para criar o plasma.

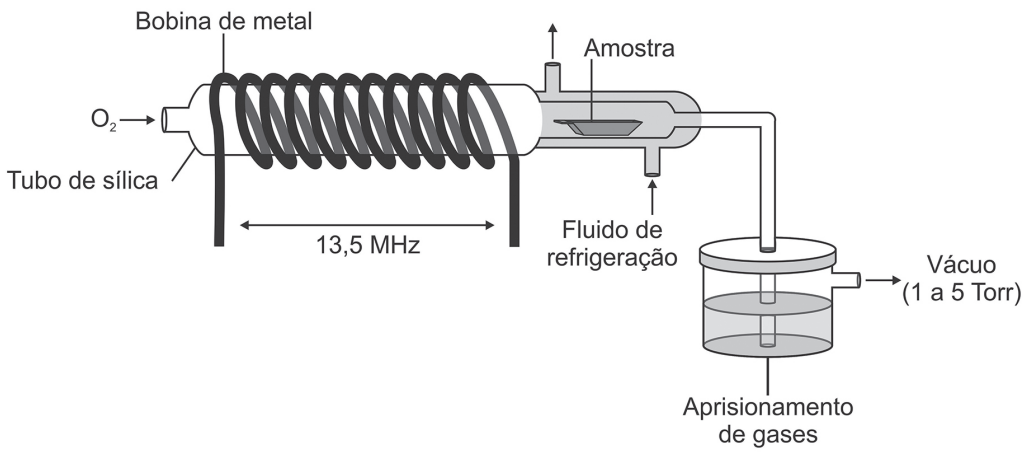

Figura. 11.3. Sistema de decomposição a baixa temperatura com oxigênio excitado. Adaptado de Anderson, 1991.[7]

Nesse equipamento, um fluxo de O_2 é admitido em um tubo de sílica a baixa pressão (1 a 5 Torr). Ao redor do tubo é fixada uma bobina feita com um fio de metal, através do qual passa uma corrente elétrica alternada. No campo eletromagnético de radiofrequência gerado, o oxigênio molecular é convertido em um plasma muito reativo contendo átomos de oxigênio excitado, radicais livres, íons e elétrons livres. O plasma envolve, então, as partículas da amostra moída, permitindo a sua decomposição sem nenhuma fonte externa de calor. A amostra é oxidada em temperaturas que raramente excedem 200 ºC e que são, geralmente, menores que 150 ºC. A amostra é posicionada bem próxima ao campo de alta frequência, tendo em vista que o tempo de existência do oxigênio excitado é de apenas 1 s. Os produtos voláteis da combustão e o excesso de oxigênio são purgados em direção a um módulo de exaustão.

Um outro sistema de decomposição de amostras à baixa temperatura com oxigênio excitado foi desenvolvido por Raptis, Knapp e Schalk[18] e denominado CPA (do inglês "*Cool Plasma Asher*"). O sistema está representado esquematicamente na Figura 11.4, sendo construído de quartzo e contendo uma barra magnética (quando necessário) para agitação da amostra, para constante renovação da camada de sólido em contato com o plasma. Neste caso, o plasma é gerado por indução, através de um gerador de 27,12 MHz e potência de 20 a 40 W. Até 1 g de

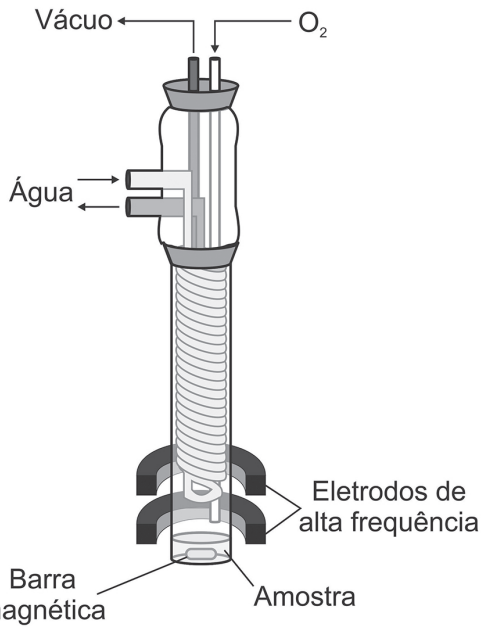

Figura 11.4. Sistema de decomposição com plasma de oxigênio (CPA).[18]

amostra pode ser decomposta empregando uma vazão de oxigênio de 4 L h^{-1}, sendo que a amostra, não contendo mais que 10% de teor de água, deve ser previamente pulverizada. Após a decomposição, um condensador é disposto na parte superior do sistema e uma etapa de refluxo, com cerca de 2 mL de um ácido apropriado, é aplicada. Desta maneira, os elementos que ficarem adsorvidos nas paredes do recipiente podem ser solubilizados no meio ácido. Na Figura 11.5 está apresentada a sequência de operações com o método de decomposição com plasma de baixa temperatura.

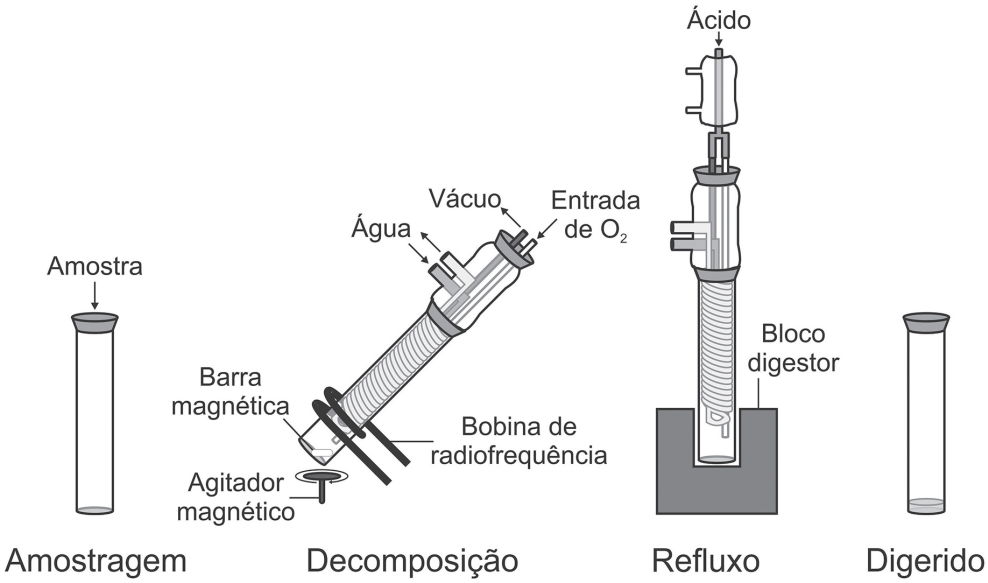

Figura. 11.5. Sequência de operações com o método de decomposição com plasma de baixa temperatura (CPA - "*Cool Plasma Asher*").[19]

Neste sistema, os constituintes não voláteis permanecem no resíduo e podem ser, então, determinados. A temperatura durante a decomposição depende da potência aplicada, da pressão do oxigênio e da natureza da amostra. Alguns exemplos são mostrados na Tabela 11.3.

Em virtude das baixas temperaturas, as perdas por volatilização e as interações com os frascos de reação são sensivelmente diminuídas. Alguns elementos como As, Cd, Sb, Pb, B e Ge são apenas alguns exemplos de analitos que podem ser posteriormente determinados após o emprego deste método de decomposição sem perdas significativas. Entretanto, halogênios, mercúrio e enxofre são perdidos durante a queima da amostra. O motivo das perdas de outros elementos como Ag,

Tabela 11.3. Temperaturas atingidas durante a decomposição com plasma de oxigênio a 1 Torr.[19]

Material	Temperatura (ºC)
Grafite	130
Papel de filtro	120
Plantas	150
Politetrafluoretileno	190
Resina sintética, polímero de espuma	150
Tecido animal	160

Au, P, Si e Re não é bem explicado na literatura, mas é possível que estes elementos sejam conduzidos para fora do frasco de decomposição como material particulado. Outra importante vantagem, em comum com os métodos de combustão simples, é que nenhuma contaminação por elementos metálicos é esperada. Devido às temperaturas não serem muito elevadas, as chances de reação entre o resíduo e o recipiente são bastante atenuadas e as recuperações obtidas são bem melhores em comparação aos métodos que empregam temperaturas mais elevadas. Uma séria desvantagem é que a baixa pressão do oxigênio implica em uma velocidade de combustão muito lenta, sendo necessárias horas ou até dias para a decomposição de 1 g de amostra. O tempo depende do tamanho das partículas, das condições de operação do equipamento e da natureza da amostra. Além disso, é difícil decompor materiais com elevados teores de cinzas. O oxigênio excitado não consegue atingir o centro da amostra, a não ser que se agite mecanicamente a mesma ou se interrompa periodicamente o processo para quebrar as cinzas com um bastão (preferencialmente de platina). Um cuidado especial deve ser tomado com mudanças súbitas na pressão pois, quando isso ocorre, parte da amostra é perdida como material particulado.

De qualquer forma, cabe ressaltar que o sistema de decomposição em baixa temperatura com oxigênio excitado apresenta vantagens como a utilização de pequenas quantidades de reagentes (e, consequentemente, menor contaminação), pequena diluição da amostra (uma vez que cerca de 2 g da amostra podem ser reconstituídos em 1 ou 2 mL de ácido) e o preparo de materiais de difícil decomposição, tais como a grafite e politetrafluoretileno (PTFE). Finalmente, o sistema é bastante seguro, já que é aberto e opera a baixa temperatura evitando, assim, o risco de explosões.

11.4.1. Aplicações dos sistemas de decomposição com plasmas de oxigênio à baixa temperatura

O tempo necessário para a decomposição de 250 mg de tecidos biológicos seguida da determinação de Bi por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS) foi avaliado por Djudzman *et al.*.[20] Cerca de 15 horas foi o tempo considerado ideal para a destruição da matéria orgânica e a obtenção de boas recuperações.

Outros autores[21] utilizaram uma mistura de oxigênio e tetrafluoreto de carbono para aumentar a taxa de decomposição de amostras de sangue. Cerca de 10 μL de sangue juntamente com 50 μL de água foram colocados em um recipiente de níquel (clássico copo de Delves). Após uma etapa de secagem em chapa de aquecimento por 2 min a 110 °C o recipiente foi introduzido no sistema. O tempo necessário para a destruição da matéria orgânica foi dependente da mistura utilizada na geração do plasma, sendo necessários *ca.* de 12 min para uma mistura 1+1 de oxigênio e tetrafluoreto de carbono. Em 1982, Williams[22] substituiu o tetrafluoreto de carbono por PTFE como fonte de flúor e como recipiente para a amostra, obtendo menor interação da amostra com o recipiente. O autor comenta que, apesar dos bons resultados obtidos para a determinação de Sn, Fe, Pb e Cr em alimentos, pode, por exemplo, ocorrer a formação de fluoretos voláteis com B, P, S, Si, Ti, U e W.

A especiação de constituintes inorgânicos em carvão por vários métodos analíticos foi realizada por Vogt,[23] utilizando a LTA para o preparo de algumas amostras. Sob as condições do sistema, alguns minerais como fosfatos, sulfatos e caolinitas podem sofrer desidratação e Hg, Se, As e Sb podem ser perdidos por volatilização. Entretanto, silicatos, carbonatos, óxidos e muitos sulfatos permanecem inalterados.

Gillain[24] verificou que perdas por volatilização de antimônio são difíceis de prevenir e boas recuperações para Sb(III) foram obtidas apenas quando uma baixa potência foi usada por um curto período de tempo. Para elementos como Zn, Cd, Pb, Cu e Bi foram encontradas boas recuperações. Além disso, foram observados brancos mais baixos em relação à decomposição em sistema pressurizado com aquecimento convencional.

Perdas de arsênio foram observadas no caso da decomposição de material particulado atmosférico e de várias matrizes sintéticas de sais marinhos.[25] As perdas não foram relacionadas com alguma forma química específica de arsênio mas, provavelmente, são dependentes da constituição da amostra, da potência empregada na geração do plasma e da duração da exposição da amostra.

Mulford[26] avaliou a influência da potência aplicada para gerar o plasma na decomposição de pó de celulose e ágar contendo óxido de cobre. O autor verificou que mercúrio era perdido em todas as potências e que selênio apresentava recuperações que variavam de 5 a 70% para as potências de 295 W e 32 W, respectivamente. Para arsênio, as perdas eram proporcionais à potência aplicada (no intervalo de 70 a 275 W). A perda de mercúrio em amostras de peixe foi avaliada por Pillay *et al*.[27] Os autores verificaram que após o intervalo de 3,5 a 7 horas de preparo, as perdas de mercúrio em seis amostras variaram de 81 a 98%.

White e Lawrence[28] investigaram a influência de alguns parâmetros no processo de decomposição. Para tanto, utilizaram amostras com tamanho de partículas menor que 75 μm, como por exemplo, de materiais botânicos. Materiais biológicos eram liofilizados, moídos e peneirados, enquanto materiais como papel e cabelo eram apenas cortados em pedaços de 5 cm e introduzidos no sistema. Para 1 g do material de referência (*Citrus Leaves*), a adição de uma barra magnética recoberta com quartzo para agitação diminuiu o tempo de decomposição de 80 h para 56 h. Para as mesmas condições, os autores adicionaram 2 a 5% de argônio ao fluxo de oxigênio, baixando o tempo de decomposição para 15 h e, posteriormente, introduziram esferas de PTFE, diminuindo o tempo para 6 h. Os autores também estudaram a influência do condensador com circulação de água no momento do refluxo com ácidos, verificando que perdas de B, Hg e S eram significantes com ou sem a passagem de água pelo condensador.

O método também foi empregado para o preparo de amostras para a determinação de Cd em sangue[29] e arroz,[30] B em tecidos animais[31] e materiais biológicos,[32] Na em fibras acrílicas,[33] Cd e Pb em sangue[34] e vinte e oito elementos em carvão.[35]

Na Tabela 11.4 estão apresentadas algumas aplicações da decomposição com plasma de oxigênio para amostras diversas, bem como relatos de perdas dos analitos quando observado.

Tabela 11.4. Aplicações da decomposição em baixa temperatura com plasma de oxigênio.[7]

Amostra	Elemento Determinado	Perdas
Cabelo	Ag, As, Au, Cd, Co, Cu, Fe, Ga, In, La, Mn, Ni, Sb, Se, Zn	Br, Hg
Carvão, grafite	As, Ga, cinza total	Cl, S
Fibras	Na	-
Leite em pó	As, Cu, Zn	-
Material biológico	As, Cr, Cu, Fe, Mn, No, Pb, Sb, Se, Zn	Ag, Au, Hg, I
Material biológico	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Zn	-
Material biológico	As, Cu	Hg, Se
Material biológico	B	B
Material biológico	Ge	-
Materiais diversos	Mg, Na, Ni, Sn, Sr, Ti	P, Si
Plantas	Co, Cu, Mn	-
Poeira	Cd, Cu, Pb, Zn	-
Polímeros orgânicos	Cinza total	-
Sangue	-	Ag, Au, Hg, Re
Soro sanguíneo	Ag, Co, Cr, Cs, Fe, Rb, Sb, Sc, Se	Zn
Soro, plasma, sangue	Be, Cr	-
Tabaco	Cd	-

11.5. DECOMPOSIÇÃO EM SISTEMA DINÂMICO DE COMBUSTÃO

Desenvolvido por Knapp *et al.*[36], este sistema, que não é mais comercializado, permite a combustão de até 1 g de amostra sólida orgânica ou de material biológico (Figura 11.6). O risco de contaminação oriunda do frasco de decomposição é mínimo considerando que o sistema é todo construído em quartzo. A amostra é prensada na forma de comprimido (cerca de 7 mm de diâmetro e 18 mm de espessura) com uma prensa manual, sendo inserida no suporte de quartzo (1) com uma pequena tira de papel (2 cm de comprimento, 4 mm de largura) em uma câmara de combustão (Figura 11.6, II) de 75 mL. A câmara de combustão é conectada a um tubo de quartzo (Figura 11.6, I) e a uma unidade de resfriamento (Figura 11.6, III), que é preenchida com nitrogênio líquido (continuamente renovado durante a combustão). Uma vazão contínua de O_2, normalmente de 80 a 100 L h^{-1}, é passada tangencialmente ao suporte da amostra na câmara de combustão. A amostra, com o auxílio de uma tira de papel, entra em ignição através da irradiação com duas lâmpadas de emissão na região do infravermelho. A amostra queima durante cerca

de 10 a 20 s (dependendo da massa e das características da composição da mesma). Os produtos voláteis da combustão são retidos no condensador contendo nitrogênio líquido, enquanto que elementos não voláteis permanecem no suporte. Após a combustão, o $N_{2\ (líq)}$, é removido e é aplicada uma etapa de refluxo com um ácido apropriado, onde a evaporação deste é prevenida através de condensadores com circulação de água. Normalmente, 2 mL de ácido são adicionados, dissolvendo os resíduos da combustão presentes no suporte e demais partes do sistema. O processo de refluxo dura, geralmente, cerca de meia hora.

Uma característica importante deste sistema é que apenas amostras orgânicas não voláteis podem ser decompostas. Isso se deve ao fato de que amostras orgânicas voláteis (*e.g.* gasolina) podem evaporar antes e durante o processo de aquecimento com as lâmpadas, podendo gerar uma explosão quando é dada a ignição.

Elementos liberados durante a combustão podem difundir para a superfície do suporte da amostra, podendo não redissolver na etapa de refluxo com ácido. Diversos suportes foram estudados, de quartzo, Pt, Ti e Ta.[36] Foi verificado que entre 5 e 30% dos elementos permaneceram irreversivelmente ligados nestes materiais, e

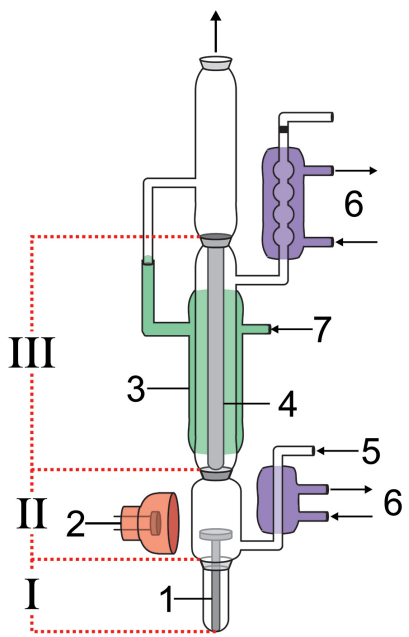

Figura 11.6. Representação esquemática do sistema dinâmico de decomposição por combustão (*Trace-O-Mat*®). I) Frasco para absorção dos analitos; II) Sistema de combustão das amostras; III) Sistema de resfriamento e condensação de gases. 1) suporte da amostra; 2) lâmpada; 3) câmara de resfriamento; 4) condensador; 5) entrada de O2; 6) circulação de água e 7) entrada de N2 líquido. Adaptado de Knapp *et al*.[36]

que as perdas foram menores que 3%, utilizando um suporte de quartzo resfriado com água. Porém, o uso deste suporte não é prático e, para tanto, foi desenvolvido um suporte que evitava o calor da zona de combustão através de um formato adequado. Porém, devido à superfície relativamente fria do suporte, em alguns casos ocorria a formação de resíduos carbonáceos, os quais eram eliminados após o refluxo com ácido. Para a remoção completa dos elementos da superfície do suporte, este deve ser invertido, imergindo no ácido durante o refluxo. Foi observado, também, que a recuperação é dependente do tempo de refluxo, sendo de 90 a 95% com 15 minutos e de 95 a 100% após 30 minutos. Obviamente, o tipo de ácido a ser adicionado depende do elemento de interesse. Normalmente, ácido nítrico é utilizado.

O sistema dinâmico de decomposição foi utilizado para a combustão de materiais biológicos), rochas e solos e posterior determinação de selênio por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HGAAS).[37] Uma mistura com quantidade ≤ 0,5 g de amostra e ácido silícico (15 a 30% da mistura, em peso) foi utilizada. Posteriormente, foram adicionados cerca de 50 μL de uma solução 1% de acetato de celulose em acetona. A amostra foi novamente misturada, prensada e seca à temperatura ambiente em dessecador. Amostras geológicas (≤ 0,3 g) foram tratadas de forma similar, porém, a proporção amostra/celulose variava de 1:1 a 1:2, dependendo do tipo de amostra. Após, o suporte com o resíduo da combustão era retirado, e então um refluxo com 2 mL de ácido nítrico ou clorídrico concentrado era aplicado.

Empregando esse sistema, o selênio é volatilizado durante a combustão como SeO_2, sendo retido no condensador. A volatilização ocorre pela liberação de calor fornecido pela combustão da celulose e os óxidos de vários metais (*e.g.* Mn, Fe, Cu, Pb) ficam quase que totalmente retidos no resíduo da combustão, sendo retirados anteriormente à etapa de refluxo (45 min), separando grande parte da matriz. Alguns elementos podem ser liberados como compostos voláteis (*e.g.* Cd, Sb, Tl, Bi). A vazão de oxigênio precisava ser controlada com cuidado, pois em vazão inferior a 400 mL h^{-1} poderia ocorrer a formação de fuligem, enquanto que com vazão de oxigênio muito elevada havia o risco de uma combustão muito violenta. Também foi relatado que a adição de ácido silícico, além de ajudar na retenção de elementos que formam óxidos pouco voláteis, promovia uma combustão mais lenta e uniforme. [37] As amostras de rochas e solos foram misturadas com ácido silícico e celulose, sendo que cloreto de magnésio foi adicionado quando havia a presença de Tl e Pb. No caso da volatilização de cádmio em solos a adição de nitrato de lantânio foi necessária.

Selênio foi determinado em amostras biológicas e orgânicas por fluorescência de raios-X (XRF) na faixa de ng g^{-1} a μg g^{-1}, empregando sistemas de decomposição por via úmida e combustão em sistema dinâmico.[38] Outros autores determinaram iodo em amostras biológicas e de interesse nutricional por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), empregando uma solução de aminas terciárias para a absorção dos produtos da combustão.[39]

11.6. SISTEMA DE COMBUSTÃO DE WICKBOLD

O método de decomposição de Wickbold foi criado em 1952 como um "método rápido para a determinação de halogênios em materiais orgânicos".[40] A idéia da pirólise e combustão em uma chama foi desenvolvida em 1922 por Voigt, mas Wickbold foi o primeiro que obteve uma decomposição completa com recuperações reprodutíveis. Neste sistema, a amostra é queimada em uma chama composta por uma mistura de, aproximadamente, 50% (v/v) de O_2 e H_2, onde são atingidas temperaturas superiores a 2000 °C. Líquidos e gases são introduzidos diretamente na chama e, no caso de amostras sólidas, uma etapa de pirólise pode ser necessária. São empregados dois tipos de queimadores, o queimador com sucção é utilizado para amostras líquidas e o queimador do tipo BITC (*Bureau International du Technique Chlorine*) para amostras sólidas, ou líquidos que contenham sólidos.

O sistema de combustão de Wickbold pode ser dividido em três partes principais (Figura 11.7):

- **Queimador** com uma unidade de pré-combustão opcional (especialmente para amostras sólidas). Amostras líquidas e gasosas são introduzidas diretamente no queimador. Amostras sólidas são, primeiramente, pirolisadas em uma unidade de pré-combustão e, então, transportadas para a chama.
- **Câmara de combustão com sistema de resfriamento com água**, onde os produtos da combustão são condensados em uma superfície de quartzo.
- **Tubo de absorção** dos produtos gasosos e condensados da combustão.

Os produtos gasosos que ficam retidos no sistema após a etapa de decomposição são retirados com a aplicação de vácuo através do tubo de absorção.

O queimador BITC para amostras sólidas emprega um recipiente de quartzo para acondicionamento da amostra. A amostra é volatilizada do recipiente e introduzida na chama através de aquecimento (de até 1100 °C) na unidade de pré-combustão. O sistema opera em batelada, onde a chama tem de ser extinta e o queimador removido para introdução de uma nova amostra. Todavia, o queimador com sucção, empregado para líquidos, opera de forma contínua e a taxa de aspiração pode ser regulada.

Líquidos inflamáveis podem ser introduzidos no sistema diretamente, mas para líquidos viscosos, não-inflamáveis e aquosos, podem ser necessárias diluições com volumes iguais de acetona e metanol.

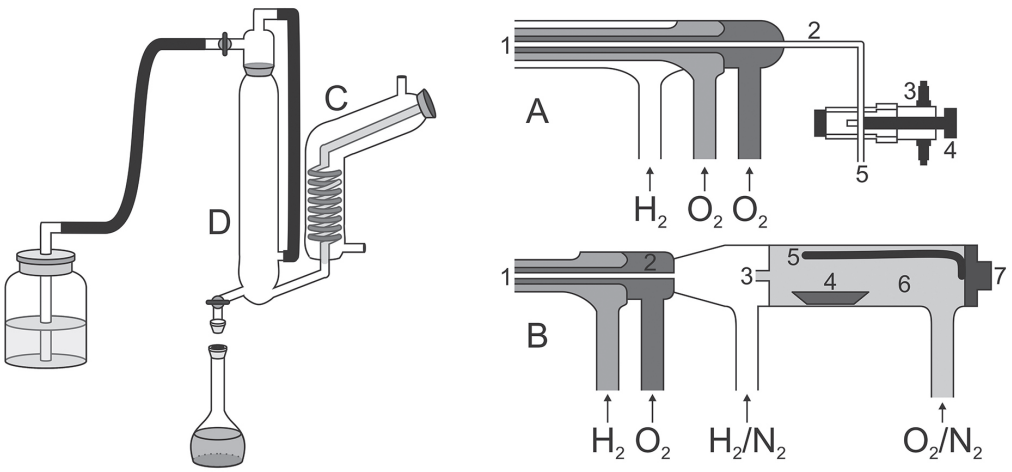

Figura 11.7. Sistema de combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio: queimador com sucção para amostras líquidas (A) e queimador para amostras sólidas do tipo BITC (B), câmara de combustão com sistema de resfriamento com água (C) e tubo de absorção (D). **A)** 1. porção final do queimador; 2. capilar; 3. regulador de PTFE; 4. válvula do tipo "agulha"; 5. introdução da amostra. **B)** 1. porção final do queimador; 2. capilar interno; 3. câmara de pré-combustão; 4. recipiente de quartzo; 5. aquecimento; 6. câmara de pirólise; 7. tampa. Adaptado das referências 41 e 42.

A decomposição de amostras orgânicas e inorgânicas sólidas, utilizando o sistema de combustão de Wickbold foi aplicada para a determinação posterior de As, Sb e Se por HGAAS.[41] Dependendo da natureza da amostra, de 0,1 a 10 g eram pesados em um recipiente de quartzo. Em alguns casos (para algumas amostras orgânicas), o recipiente de quartzo era coberto com lã de vidro para evitar a projeção da amostra, impedindo o bloqueio dos capilares do queimador durante a etapa de pirólise. Geralmente, a câmara de combustão necessitava

de um fluxo de nitrogênio ou oxigênio contendo tetracloreto de carbono para que, após a decomposição, os elementos pudessem ser convertidos em seus respectivos haletos. Esta é a razão pela qual apenas metais, que formam haletos com ponto de ebulição menor que 1100 °C, podem ser determinados após a decomposição no sistema. Diversas soluções absorvedoras também foram investigadas, mostrando que mesmo água pode servir para a absorção de diversos elementos.

Outro aspecto interessante refere-se à possibilidade da separação de compostos de alta volatilidade daqueles com baixa volatilidade, através do controle da temperatura da câmara de pré-combustão. Esta estratégia foi aplicada para a decomposição de resíduos da combustão de um material de referência (BCR 176, resíduo da incineração de lixo urbano). Foi observado que Al, Cr, Fe, Ti, Cu, Ni, metais alcalinos e alcalino-terrosos permaneciam no resíduo. A concentração de Pb, Cd e Zn diminuiu significativamente quando temperaturas elevadas foram empregadas, sendo que menos que 5% destes elementos eram volatilizados a 600 °C.

Outra aplicação foi a determinação voltamétrica de Pt em gasolina, após a decomposição no sistema de Wickbold.[43] Apesar das condições extremas, foi observado que muitas das soluções aquosas, obtidas após a decomposição, continham alguns compostos orgânicos que interferiam na determinação de platina por voltametria. Porém, nenhum problema foi encontrado na determinação por ICP-MS. Dentre as aplicações, merece destaque o uso do sistema de combustão de Wickbold para o preparo de amostras de petróleo para a determinação de S e Cl.[44-46]

O sistema de combustão de Wickbold com chama hidrogênio-oxigênio foi usado, também, para a decomposição e posterior determinação de fluoreto em compostos orgânicos contendo flúor,[47] cloreto em polímeros de polibuteno,[48] nitrogênio em óleos minerais[49] e mercúrio em petróleo.[50] Este sistema é adequado, também, para o preparo de amostras seguido da determinação de mercúrio por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio com sistema de injeção em fluxo (FI-CVAAS).[42] Neste caso, a faixa de trabalho, definida experimentalmente, foi estendida até 1000 μg Hg, mostrando que é possível decompor amostras orgânicas e inorgânicas com o sistema e determinar mercúrio por FI-CVAAS de maneira simples.

Apesar de ter havido poucas modificações do sistema originalmente desenvolvido, algumas empresas atualmente comercializam diversas versões do sistema de Wickbold.[51-53]

11.7. FRASCO DE COMBUSTÃO DE SCHÖNIGER

Entre as principais dificuldades associadas com a decomposição em forno tipo mufla, e até mesmo com a decomposição em baixas temperaturas, podem ser citadas as perdas de elementos como espécies voláteis. No método do tubo de combustão, o problema é contornado ao se promover a volatilização quantitativa dos analitos e recuperá-los como produtos voláteis da fase gasosa. Contudo, a aparelhagem envolvida é complexa e as operações requerem mais habilidade e cuidados. Idealmente, sistemas de decomposição deveriam ser relativamente fáceis de operar, sem envolver aparelhagem complexa e que pudessem oxidar completamente as amostras orgânicas e biológicas de modo que tanto os produtos voláteis e não voláteis fossem recuperados quantitativamente sem perdas. Com o advento do método do frasco de combustão com oxigênio, também conhecido como frasco de combustão de Schöniger, muitas das características citadas acima foram quase alcançadas.

Originalmente, o método foi introduzido em 1892, por Hempel, para macroanálise, mas em 1955, Schöniger adaptou e desenvolveu o método para a decomposição de amostras orgânicas e biológicas para a determinação de elementos em baixas concentrações.[54] Essencialmente, o método consiste em confinar a amostra em um envoltório, normalmente de papel, o qual fica suspenso em um frasco fechado com atmosfera de O_2 e uma solução absorvedora, adequada para o elemento que se deseja determinar. Em geral, os frascos de combustão de oxigênio comerciais consistem em frascos cônicos de paredes resistentes e tampa com vidro esmerilhado, no qual é fixado um fio resistente e rígido de platina, com uma cesta, também de platina, fixada na extremidade, atuando como uma dobradiça para prender a amostra.

De maneira geral, o procedimento com o frasco de combustão de Schöniger pode ser descrito de acordo com as seguintes etapas descritas na Figura 11.8:

(a) No frasco de combustão adiciona-se um volume adequado de solução absorvedora. Normalmente, esta é uma solução de ácido diluído quando se pretende determinar um metal, ou uma solução de álcali diluído quando o objetivo é a determinação de um elemento não metálico.

(b) A amostra, previamente pesada, é envolvida em papel filtro com baixo teor de cinzas. Cabe salientar que a massa da amostra depende do volume e do tipo de frasco utilizado.

(c) A amostra, envolta no papel filtro, é fixada na cesta de platina de forma que seja deixada uma saliência do papel. Em seguida, oxigênio gasoso é introduzido no frasco, expulsando o ar do seu interior, a fim de que a atmosfera no frasco seja, predominantemente, de oxigênio.

(d) Imediatamente após a introdução de oxigênio, acende-se a saliência do papel que envolve a amostra, segurando-a e colocando-se a tampa no frasco (alguns sistemas comerciais permitem que a ignição seja feita eletricamente, ou com uma lâmpada de emissão na região do infravermelho com auxílio de uma lente). O frasco (Figura 11.8) é invertido para que a própria solução absorvedora auxilie na vedação da tampa. A amostra e o papel filtro queimam na presença da atmosfera de oxigênio puro (a combustão é rápida e se completa entre 5 e 15 s). Como a pressão no interior do frasco aumenta consideravelmente durante a combustão, faz-se necessário prender fortemente a tampa, pois, caso contrário, ela será aberta.

(e) Após a amostra ter sido completamente queimada, deixa-se o frasco esfriar (se ocorrer a formação de fuligem ou depósitos de carbono, significa que a amostra não foi bem decomposta e que algumas determinações podem ser prejudicadas). A solução absorvedora deve ser agitada para garantir a completa absorção de todos os produtos voláteis de oxidação, assim como a dissolução das cinzas.

(f) O frasco pode ser aberto após a completa absorção de todos os produtos de oxidação. Este processo pode ser observado, alguns minutos após o término da combustão. Finalmente, a solução absorvedora poderá ser analisada.

11.7.1. Tipos de frascos

Os frascos de combustão são feitos, geralmente, de vidro borossilicato, preferencialmente com paredes reforçadas. Usualmente, um frasco do tipo Erlenmeyer de borossilicato de 500 mL (suficiente para queimar de 50 a 60 mg de amostra) é empregado. Porém, alguns autores utilizaram frascos de polietileno visando a posterior determinação de silício, bem como quartzo[55] e policarbonato[46] para a determinação subsequente de fluoreto, de forma a minimizar a interação do analito com o frasco.

O suporte da amostra, geralmente, é composto por um fio de platina de 0,5 a 1 mm de espessura que forma uma espécie de "cesta" de 15 x 30 mm na extre-

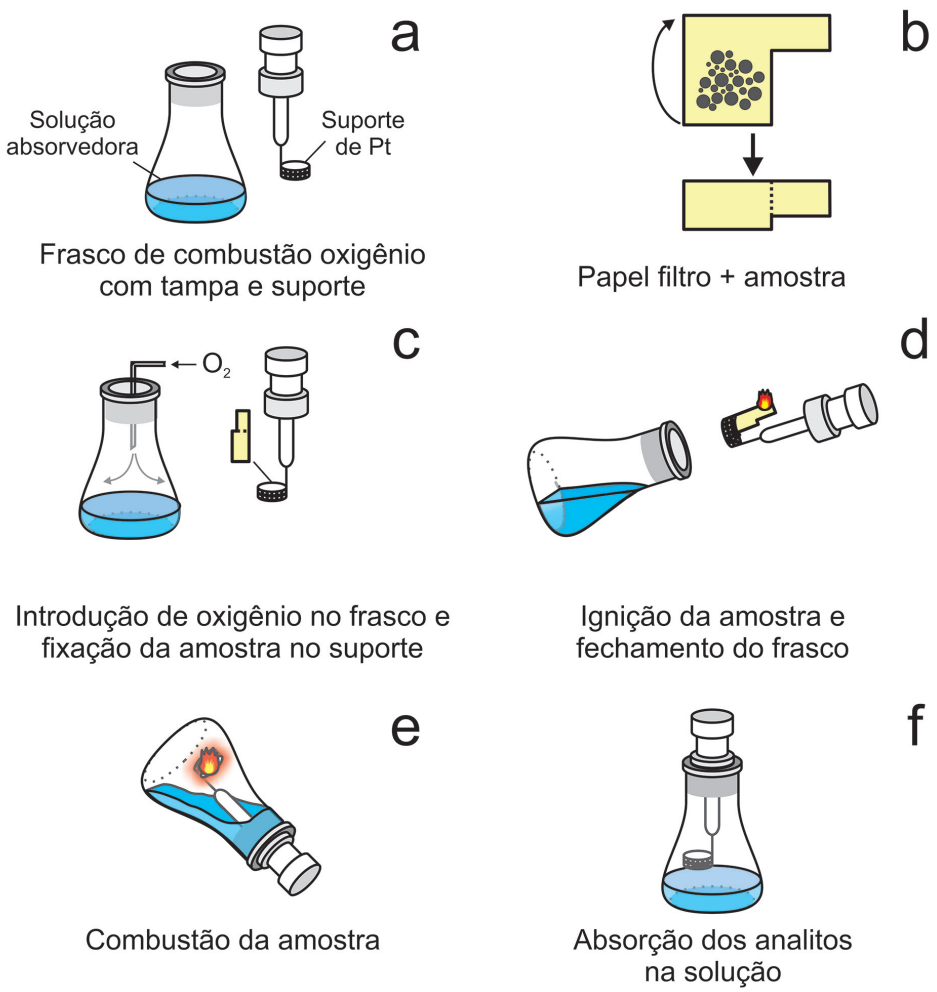

Figura 11.8. Sequência operacional em um frasco de combustão comercial Adaptada de Anderson, 1991.[7]

midade.[56] Contudo, podem ocorrer interações de alguns elementos com a platina do suporte, conforme foi observado em alguns trabalhos,[57] durante o processo de combustão de compostos orgânicos para a determinação de bismuto (possível formação de ligas do bismuto com a platina). Assim, para contornar o problema, é possível substituir o suporte de platina por uma espiral de sílica.

Outros elementos como antimônio,[58] selênio[59] e arsênio[60,61] também podem interagir com o suporte de platina, levando a resultados insatisfatórios devido à adsorção no suporte. Baixas recuperações para mercúrio (determinação por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio) foram encontradas utilizando um suporte de platina.[62] A baixa recuperação foi atribuída à platina volatilizada do suporte, pois foram encontrados de 5 a 10 μg desta na solução absorve-

dora. Para contornar este problema, foram empregados com sucesso, suportes feitos de tântalo e tungstênio.[62]

O material mais utilizado para envolver a amostra é o papel filtro com baixo teor de cinzas. Porém, em alguns trabalhos, foram empregados papel de cigarro, filmes de polietileno,[63] cápsulas de metilcelulose,[64,65] cápsulas de gelatina para líquidos[66,67] e sólidos voláteis,[68] capilares de vidro no caso de líquidos de alto ponto de ebulição, além de envelopes de fita adesiva,[69] celofane[70,71] para amostras sólidas e cones de acetato de celulose[72] para evaporação de líquidos antes da ignição[73]. Para a determinação de iodo e mercúrio em unguentos, foi proposto um papel especial para envolver a amostra.[74] Cápsulas de acetato de celulose também foram empregadas como invólucro da amostra. Cápsulas de policarbonato com capacidade de 0,2 mL (contendo 0,085% Cl, 0,01% P, 0,036% N), foram empregadas para a combustão de amostras de líquidos voláteis e amostras higroscópicas. A contaminação de cloro em vários papéis filtro, celofane, polietileno e polipropileno variando de 175 a 5500 mg kg^{-1} também tem sido relatada.[75] Porém, a contaminação pode ser reduzida deixando o papel de molho por, pelo menos, uma semana em etanol 95%. A contaminação por iodo em papéis utilizados com ignição por radiação infravermelha, associando-a ao pigmento preto adicionado ao papel também foi relatada.[76]

No caso da combustão de óleos, as cápsulas de gelatina perdem o formato rapidamente após a ignição e partículas que não foram queimadas podem cair na solução absorvedora. Uma alternativa ao uso de papeis filtro foi o uso de um microbéquer para suspender a amostra.[77] O sucesso na combustão de óleos depende da quantidade da amostra, da geometria do papel filtro e da distribuição da amostra neste, sendo possível a obtenção de bons resultados quando a amostra encontra-se bem distribuída no papel.[78]

Com relação à ignição, esta pode ser elétrica, com radiação focalizada usando lâmpada com filamento de tungstênio e, também, manual, sendo as primeiras mais vantajosas com relação aos aspectos de segurança, uma vez que é efetuada com a proteção de um anteparo. A ignição manual, apesar de apresentar menor segurança, é bastante simples. Em alguns frascos é verificado que, após a combustão, um pequeno vácuo é criado no interior do frasco devido ao consumo de oxigênio e carbono e à formação e absorção de CO_2.

O tamanho do frasco depende da quantidade de amostra a ser queimada, lembrando que tanto a amostra quanto o papel consomem oxigênio durante a com-

bustão. Em muitos casos, o frasco é muito maior do que o tamanho mínimo requerido (*e.g.* cerca de 30 mg de amostra para um frasco de 300 mL). Os tamanhos de frascos e sua relação com a massa de amostra a ser decomposta são fornecidos na Tabela 11.5.

Tabela 11.5. Tamanhos de frascos de combustão com relação à massa de amostra.[8]

Massa de amostra (mg)	Volume do frasco (mL)
1000 - 10000	2000 - 10000
500 - 1000	2000
100 - 150	1000
50 - 60	500
20 - 30	300
2 - 10	300
0,03 - 5	25
0,03 - 2	10

Apesar de não ser disponível comercialmente, um frasco de combustão para amostras de até 1 g pode ser facilmente construído em laboratório, sendo bastante simples e seguro, permitindo o preparo de amostra em apenas 10 min, conforme mostrado na Figura 11.9. Para tanto, um balão de fundo chato de borossilicato de 2 L, com uma saída lateral na qual é adaptado um balão de borracha (tipo bexiga) é utilizado. A amostra, envolta em papel, é colocada em uma cesta metálica (Ni-Cr) suspensa na tampa do frasco. Uma barra magnética, recoberta com PTFE, é colocada no interior do frasco para a agitação. Após adição de 50 mL de solução absorvedora (*e.g.* solução 0,1 mol L^{-1} HCl para mercúrio), a amostra envolta em papel na cesta é adicionada e o frasco preenchido com O_2. A ignição do papel contendo a amostra é feita manualmente e a tampa, com borda esmerilhada e contendo a cesta metálica com a amostra, é colocada para fechamento do balão. A tampa é fixada por meio de uma presilha durante a combustão, que dura cerca de 8 min para 1 g de amostra. Durante a combustão, o balão infla um pouco, retornando a sua forma original quando a combustão termina. A solução interna é agitada por meio da barra magnética para que a solução absorvedora lave a parte interna do frasco sem molhar a cesta e, após 5 min, o procedimento está concluído. Este procedimento pode ser útil para a determinação de mercúrio em tecido muscular de peixes.

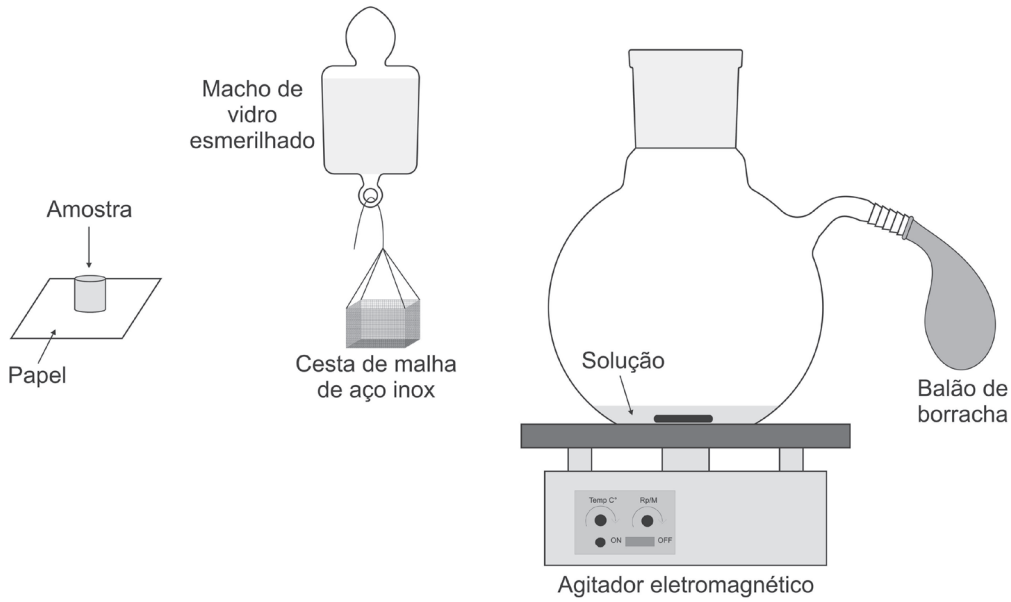

Figura 11.9. Frasco de combustão de Schöniger de 2 L, com apêndice lateral para fixação de um balão de borracha, contendo solução absorvedora e barra magnética.[79]

11.7.2. Utilização de aditivos para auxiliar a combustão

Quando se deseja a decomposição de constituintes da amostra muito resistentes à oxidação, podem ser adicionados alguns aditivos para auxiliar o processo de combustão. Estes aditivos são misturados intimamente com a amostra ou usados como solução para embeber o papel filtro no qual a amostra será envolta. Na Tabela 11.6 são apresentados alguns exemplos de aditivos utilizados para combustão.

Tabela 11.6. Auxiliares de combustão para compostos de difícil oxidação.[8]

Tipos de amostra	Auxiliares
compostos halogenados	tolueno, parafina, decalina, sulfato de hidrazina, açúcar, nitrato de sódio, nitrato de potássio
compostos organofluorados	açúcar, clorato de potássio, peróxido de sódio
compostos organofosforados	parafina, persulfato de amônio
compostos organoarsênicos	nitrato de potássio
compostos organoborados	açúcar
material biológico	açúcar

11.7.3. Soluções absorvedoras

Um aspecto importante, relacionado aos sistemas de combustão, é a solução utilizada para absorver os analitos. Após a combustão, os analitos devem ser quantitativamente retidos em uma solução, previamente à determinação. Contudo, em geral, não existe uma solução absorvedora única e que possa ser utilizada para reter todos os analitos. A escolha da solução está relacionada com o tipo de analito e com a compatibilidade com o frasco de decomposição e com o método de determinação. Às vezes, uma pequena diferença na composição das soluções pode, também, ser significativa. Além disso, muitos produtos de combustão podem levar horas para serem absorvidos, mas se o processo for realizado com agitação, este tempo pode ser reduzido para 5 ou 10 minutos. Muitas aplicações utilizando o frasco de Schöniger são para a subsequente determinação de halogênios e, assim, algumas soluções utilizadas para estes elementos serão mencionadas a seguir.

Para a absorção de flúor, diversas soluções têm sido utilizadas. Contudo, água ou soluções de carbonato[80,81] têm sido as mais utilizadas para esta finalidade, embora soluções alcalinas também tenham sido adequadas, principalmente devido à facilidade de adaptação às técnicas de determinação utilizadas para F. Pode ser utilizada, também, uma solução tampão de citrato[82] quando a determinação de flúor é feita por potenciometria com eletrodo íon seletivo (ISE).

Para cloro, as soluções mais utilizadas são de peróxido de hidrogênio diluído em água[83] ou soluções de carbonato/bicarbonato de sódio ou potássio. Além disso, alguns autores relatam o uso destas soluções de forma combinada.[84] Entretanto, é importante destacar que bons resultados foram obtidos usando somente água como solução absorvedora para Cl.[75] Para absorver bromo, de um modo geral, as soluções utilizadas são similares às utilizadas para Cl como, por exemplo, as soluções alcalinas ou carbonatos.[83-86]

Para recuperações quantitativas de iodo, soluções alcalinas têm sido usadas. Além de soluções de hidróxido de sódio, soluções de formiato de sódio e carbonato/bicarbonato de sódio ou potássio também podem ser usadas.[85,87]

A combustão em frasco de Schöniger também pode ser utilizada para a subsequente determinação de fósforo e enxofre. No caso do enxofre, de um modo geral, as mesmas soluções usadas para absorver Br e Cl, também se mostraram apro-

priadas para absorver enxofre.[81,86] Para fósforo, geralmente, são utilizadas soluções oxidantes contendo HNO_3 ou H_2O_2.[83,88]

No caso da aplicação da combustão em frasco de Schöniger para a posterior determinação de metais, alguns autores relataram a obtenção de bons resultados quando HNO_3 diluído foi utilizado como solução absorvedora.[89] Ainda, para o caso particular em que se pretende determinar mercúrio, pode ser utilizada uma separação prévia por extração com solvente (*e.g.* ditizona em CCl_4), utilizando 50 mL de solução 0,1 mol L^{-1} HCl e 4 mL de solução 0,02 mol L^{-1} $KMnO_4$. Neste caso, a presença de permanganato é necessária para a oxidação de iodeto e/ou sulfeto, eventualmente presentes na solução da amostra, e que podem interferir na separação.

11.7.4. Vantagens e limitações

As vantagens do frasco de combustão de Schöniger incluem a rapidez com que as amostras são decompostas, o baixo risco de perdas e contaminação (por se tratar de um sistema fechado) e a simplicidade do processo. Como o custo do equipamento é relativamente baixo, é comum trabalhar com um conjunto de frascos, tornando a produtividade maior. Outra grande vantagem deste método é a possibilidade da utilização de soluções absorvedoras adequadas ao analito bem como ao método de determinação.

A principal limitação do método de Schöniger refere-se à oxidação incompleta da amostra, pois às vezes pode se formar um pouco de fuligem, a qual pode interferir na determinação de alguns elementos (*e.g.* fósforo) dependendo do método de determinação. Contudo, em muitos casos o uso de um aditivo para auxiliar o processo de combustão pode contornar este problema. Também, é bastante comum a formação de CO, o que torna o método inviável para a determinação de carbono. Outra fonte de problema é a evaporação de compostos voláteis antes de serem queimados. Esta fonte de erro pode ser minimizada envolvendo a amostra com várias camadas de papel filtro. Finalmente, é importante lembrar que o teor de umidade na amostra deve ser baixo, idealmente menor que 3%, para permitir a decomposição completa da mesma.

O frasco de combustão de Schöniger tem sido empregado para a subsequente determinação de muitos metais (alumínio, mercúrio, ferro, zinco, cádmio,

cobre, manganês, níquel, titânio e cobalto), metais alcalinos terrosos (cálcio, bário e magnésio), halogênios, enxofre, selênio, arsênio, germânio, boro, fósforo e até mesmo urânio em amostras orgânicas e biológicas. Na Tabela 11.7 são mostradas algumas condições para a decomposição de amostras empregando o sistema de Schöniger aplicado para posterior determinação de diversos elementos.

Tabela 11.7. Condições para decomposição de amostras e subsequente determinação de elementos diversos utilizando o frasco de combustão de Schöniger.

Massa de amostra (mg)	Analito	Volume do frasco (mL)	Aditivo	Solução absorvedora	Referência
0,3-0,8	F	250	1 mg $KClO_3$	30 mL de H_2O	90
2	F	-	-	H_2O	91
2	F	-	-	H_2O	92
0,4-20	F	250-500	-	5-10 mL de H_2O	93
30	F	500	10 mg WO_3 e 5 mg Sn	5 mL de H_2O	80
30	F	500	10 mg WO_3 e 5 mg Sn	5 mL de H_2O	94
30	F	500	10 mg WO_3 e 5 mg Sn	5 mL de H_2O	95
2-4	Cl	250	-	10 mL de H_2O	96
3-5	Cl	-	-	5 mL H_2O e 3 gotas de H_2O_2	97
4-8	Cl	250-300	-	10 mL H_2O, 1 mL de sol. 2 mol L^{-1} KOH e 3 gotas de H_2O_2	98
4-8	Cl	250-300	-	10 mL H_2O, 1 mL de sol. 2 mol L^{-1} KOH e 3 gotas de H_2O_2	99
4-8	Cl	250-300	-	10 mL H_2O, 1 mL de sol. 2 mol L^{-1} KOH e 3 gotas de H_2O_2	100
4-8	Cl	250-300	-	10 mL H_2O, 1 mL de sol. 2 mol L^{-1} KOH e 3 gotas de H_2O_2	101
4-8	Cl	250-300	-	10 mL H_2O, 1 mL de sol. 2 mol L^{-1} KOH e 3 gotas de H_2O_2	102
50-100	Cl		-	20 mL de uma solução contendo 2,52 g de Na_2CO_3, 2,54 g de $NaHCO_3$ e 25 mL de H_2O_2 em 1 L de água	103
2-4	Br	250	-	10 mL de sol. 0,05% H_2O_2	96
500	Br	6000	-	30 mL de sol. 5% HCOOH	104

Tabela 11.7. Condições para decomposição de amostras e subsequente determinação de elementos diversos utilizando o frasco de combustão de Schöniger. (cont.)

Massa de amostra (mg)	Analito	Volume do frasco (mL)	Aditivo	Solução absorvedora	Referência
2,5-4	S	300	-	3 mL de 1 mol L^{-1}NaOH	105
2,5-4	S	300	-	3 mL de 1 mol L^{-1}NaOH	106
4-8	S	250-300	-	10 mL H_2O, 1 mL de sol. 2 mol L^{-1} KOH e 3 gotas de H_2O_2	107
10	S	-	-	50 mL de sol. 6% (m/v) H_2O_2	108
10-20	S	-	-	Sol. de H_2O_2	109
50-200	S	-	-	25 mL H_2O e 0,5 mL H_2O_2	110
4-6	Se	500	4 mg sacarose	10 mL de sol. 0,01 mol L^{-1} NaOH	111
100	Se	1000	-	5 mL de sol. 0,1 mol L^{-1} NaOH	112
4-5	P	-	-	10 mL de H_2O	113
4-6	P	1000	-	10 mL de sol. 2 mol L^{-1} H_2SO_4	114
10	P	1000	0,1% (m/m) $KMnO_4$	0,001 mol L^{-1} KOH	115
10	P	1000	0,1% (m/m) $KMnO_4$	0,001 mol L^{-1} KOH	116
20	P	1000	0,1% (m/m) $KMnO_4$	0,001 mol L^{-1} KOH	117
25	P	-	-	HNO_3	118
50	P	500	Na_2CO_3	10 mL de sol. 1:10 H_2SO_4	64
100	P	1000	-	20 mL de sol. 1:5 HNO_3	77
4-20	B	100	4-20 mg KOH	2 a 5 mL de H_2O	119
5-10	B	250	-	10 mL de H_2O	120
1000	Hg	5000	0,4 g celulose	200 mL de 0,1 mol L^{-1} HCl	121
2,5-4	W	300	-	3 mL de 1 mol L^{-1} NaOH	89
10-20	Al, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn e Na	300	-	20 mL de sol. contendo 1 mol L^{-1} HCl, 0,5 mol L^{-1} HNO_3 e 1 mg L^{-1} de ítrio (padrão interno) para absorção de metais ou sol. 0.1% H_2O_2 contendo 25 mg L^{-1} de fosfato (padrão interno) para absorção de cloreto	122
2-7	Co, Mn	500	15-20 mg Na_2CO_3	5 mL de 6 mol L^{-1} HCl	123
5-10	Cd, Mg e Zn	250	-	5 mL de 1 mol L^{-1} HCl	120

A aplicação para alguns elementos, tais como arsênio, bismuto e chumbo, requer maior cuidado porque estes podem formar ligas com a platina do suporte. Neste caso, o suporte deve ser de sílica. Outros metais, como níquel e gálio, formam óxidos insolúveis e, portanto, necessitam de tratamento especial antes de serem determinados. Todavia, muitos elementos, tais como os alcalino-terrosos, zinco, cádmio e mercúrio, são determinados sem maiores problemas.

Os métodos baseados no sistema original desenvolvido por Schöniger têm sido empregados rotineiramente em muitos laboratórios e são recomendados em compêndios oficiais para diversas aplicações, inclusive para a posterior análise de fármacos.[124,125] Estes sistemas são disponíveis comercialmente.[126]

11.7.5. Artigo original de Walther Hempel

Devido ao caráter histórico, a seguir é apresentada uma tradução parcial do artigo original descrito por Hempel em 1892, gentilmente fornecida pelo Prof. Dr. Ayrton Figueiredo Martins do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Cabe ressaltar que este artigo impulsionou várias outras ideias de métodos de combustão de amostras orgânicas, mas foi somente em 1955 que o sistema apresentou uma evolução significativa com as modificações realizadas por Schöniger. Portanto, este texto é colocado aqui com o intuito de prestigiar esta importante contribuição.

Sobre um método de determinação de enxofre em carvão e corpos orgânicos - ***por Walther Hempel [1892]***[127]

Estimulado pela experiência de Berthelot, que tem feito a determinação de enxofre em corpos orgânicos de uma maneira simples pela combustão dos mesmos em bomba recoberta internamente com platina – eu pensei se não seria possível realizar isto sem a aplicação deste aparelho tão caro, apenas através da combustão direta e determinação do enxofre em corpos orgânicos. Uma série de tentativas demonstraram que, de fato, é possível fazer a combustão em um grande recipiente de vidro, quantitativamente, sem problemas e, com isso, obter-se um método muito rápido e exato. As substâncias a serem queimadas são comprimidas em um pequeno cilindro, no qual um fio de platina

é colocado da mesma maneira como se faz para determinar o poder calorífico. Como recipiente de combustão, pode ser usado um frasco comum de vidro de 10 L, o qual é provido com uma rolha de borracha com três furos. Um tubo de vidro com torneira é inserido na rolha, com extremidade externa em forma de tubo de 50 mL e dois tubos de vidro nos quais são inseridos dois fios de platina de 0,6 mm de espessura. Um deles possui, no seu final, uma cesta de platina (feita de uma tela de platina), que fica cerca de 25 mm acima do fundo do recipiente.

Para fins de ignição elétrica, enchem-se os dois tubos com mercúrio e faz-se um contato através de fios com uma bateria de 6 elementos. Quando não utilizado, tampam-se os tubos com pequenas rolhas de cortiça. Quando necessário realizar um experimento, então se retira a rolha de borracha do frasco de gás, coloca-se o cilindro (no qual a substância a ser analisada está comprimida) na cesta de platina e enrola-se o seu fio de ignição em torno dos fios de platina de tal maneira que, na ignição posterior, a eletricidade passe através deles. Então, enche-se o frasco com água destilada, fecha-se com uma rolha comum e coloca-se esta invertida sobre uma grande cápsula de porcelana, posicionada sobre um tripé. Aqui, água é colocada na cápsula de porcelana de tal maneira que o pescoço do frasco ainda emerge. Após retirar as rolhas, enche-se o frasco com oxigênio. Muito cômodos para este objetivo são os recipientes do Dr. Elkkan, disponíveis no mercado, com oxigênio comprimido a 100 atmosferas. O frasco cheio com oxigênio é, novamente, fechado com rolha e recolocado de pé. Agora, retira-se a rolha e mergulha-se o carvão que sofrerá combustão na cesta com o reticulado de fios. Como o oxigênio é mais pesado que o ar, não escapa significativamente do frasco. Como, durante a combustão, ocorre uma pequena sobrepressão no frasco, é recomendável amarrar a rolha para que não venha a saltar. O aparelho assim preparado é ligado então aos polos da bateria de 6 elementos e o carvão entra em combustão quando os fios de platina ficam incandescentes. Se o carvão for posicionado bem embaixo do frasco, a combustão ocorre sem dificuldades, pois os produtos quentes da combustão sobem para a parte superior do frasco, de tal maneira que sobra oxigênio embaixo. Após a combustão, produz-se um pequeno vácuo pela adição de um pouco de água fria no frasco e, através do funil com torneira, são adicionados 100 mL de solução 5% (v/v) de HCl contendo uma pequena gota de bromo.

Como grande parte da água formada na reação fica na forma de uma fina névoa no frasco, deixa-se em repouso por uma hora, até que a névoa desapareça. As paredes internas do frasco são lavadas com a água que é, posteriormente, transferida para um

béquer. Na determinação de enxofre em carvão, após a separação necessária do resíduo mineral por filtração, lava-se a cesta de platina, os fios e o interior do frasco com 75 mL de água, começando a filtração imediatamente, de tal maneira que, com as porções de lavagens posteriores, o béquer e o filtro sejam lavados também. É possível lavar todo o ácido sulfúrico formado sem exceder 500 mL de solução final resultante. A solução resultante é levada à ebulição e, de maneira convencional, submetida à precipitação com cloreto de bário; a barita formada é filtrada, seca, purificada e pesada. No seguinte exemplo, pode-se verificar o grau de exatidão obtido neste procedimento:

(Segue a descrição da análise de caseína bovina.....)

Os resultados demonstram que as diferenças situam-se dentro do erro experimental do procedimento, de tal maneira que, no sentido de simplicidade, rapidez e exatidão, este nada deixa a desejar.

11.8. BOMBA DE COMBUSTÃO

Neste sistema, bastante similar à bomba calorimétrica empregada em experimentos de calorimetria, as amostras são decompostas em uma bomba de aço, na presença de excesso de oxigênio e os produtos gasosos gerados no processo de combustão são absorvidos em uma solução adequada. Na Figura 11.10 são mostradas as principais partes que constituem a bomba de combustão.

As amostras são preparadas na forma de comprimidos e posicionadas no copo de ignição, que fica em contato com dois eletrodos de platina para a ignição. Ao recipiente de decomposição, geralmente com volume de 300 mL, são adicionados de 5 a 10 mL de uma solução apropriada para a absorção dos analitos. Posteriormente, a bomba é fechada e preenchida com oxigênio, com pressões que variam de 20 a 30 atm. Assim, a ignição é feita através do contato elétrico dos eletrodos de platina com a amostra. De forma geral, a decomposição da matéria orgânica é bastante efetiva e o processo ocorre em poucos minutos.

Após a combustão, o sistema é, normalmente, submerso em água[128,129] ou em banho de gelo para acelerar a etapa de resfriamento. Após, a bomba é aberta e a solução absorvedora é levada para a etapa de determinação. Em alguns casos, são

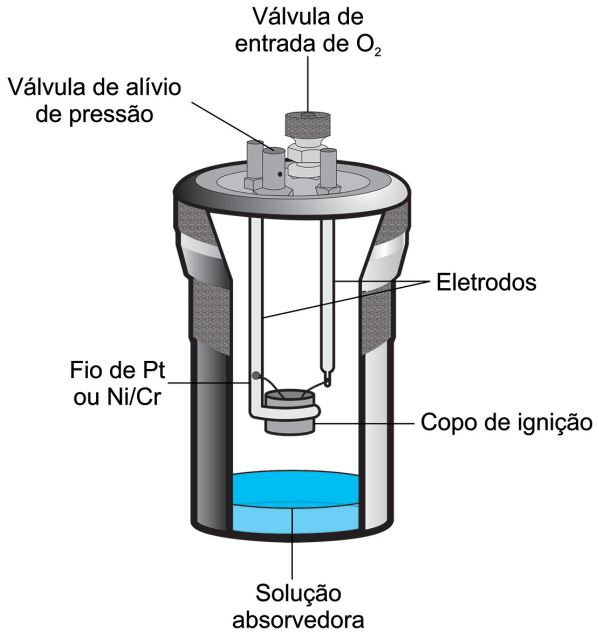

Figura 11.10. Representação esquemática de uma bomba de combustão convencional. Adaptada de Flores *et al*., 2007.[2]

utilizados aditivos para auxiliar a combustão e melhorar a eficiência do processo. Alguns autores utilizaram substâncias como álcool,[130] alcanos,[131] óleos[132] e parafina[129] com este objetivo. Este sistema possibilita a combustão de massas de amostras relativamente elevadas (em geral, superiores a 500 mg) e um tempo geralmente superior a 2 ou 3 h, considerando a etapa de resfriamento.

Problemas de contaminação durante a decomposição usando bomba de combustão foram relatados por alguns autores, principalmente no caso da determinação de elementos-traço metálicos. Estes problemas foram relacionados com a contaminação devida às partes metálicas do recipiente de decomposição, principalmente quando ácidos concentrados foram utilizados. Para minimizar estes riscos, alguns materiais como quartzo ou sílica fundida, foram propostos para o revestimento das paredes internas do recipiente e/ou do compartimento onde a amostra fica localizada.[130,133]

Este método apresenta como desvantagens a baixa eficiência na etapa de limpeza.[133] Outra desvantagem é a baixa frequência de decomposição, pois somente uma amostra pode ser queimada por vez. Contudo, os teores encontrados para carbono residual são extremamente baixos, quando comparados aos sistemas de decomposição por via úmida.

Procedimentos empregando a bomba de combustão foram comparados com outros procedimentos de decomposição para a determinação de Se em tecido de peixe por voltametria de redissolução catódica[134] As decomposições por via úmida em sistema fechado com aquecimento por micro-ondas, decomposição em mufla e decomposição em sistema aberto empregando HNO_3 + H_2O_2 e radiação UV resultaram em uma solução clara e incolor, mas selênio foi detectado apenas quando foi utilizada a decomposição em mufla ou com a bomba de combustão.

Uma bomba de combustão do tipo Parr foi utilizada para o preparo de cinzas de termoelétricas, visando à determinação de Hg. Para tanto, uma mistura de H_2SO_4 e $KMnO_4$ foi usada como solução absorvedora. A determinação de Hg foi feita por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor a frio (CVAAS).[135]

A bomba de combustão foi empregada para decompor combustíveis e efluentes orgânicos industriais, visando à determinação de F, Cl, Br, I, S, N e P por cromatografia de íons com detector espectrofotométrico.[131,136] Neste caso, o uso da bomba foi justificado devido aos problemas de decomposição incompleta utilizando o sistema de Schöniger, pois o procedimento de decomposição por via úmida com micro-ondas era perigoso para a oxidação de combustíveis orgânicos. Com este método, foi possível atingir recuperações muito próximas a 100%, exceto para nitrogênio, as quais foram atribuídas a eventuais perdas pela formação de N_2 ou outras espécies menos solúveis de NO, ao invés da completa oxidação à NO_2. Este sistema pode apresentar problemas para fósforo, devido à formação de óxidos de fósforo que tenham baixa solubilidade em água.

Vários elementos foram determinados em polietileno, sendo observadas boas recuperações para Cl e Hg quando determinados imediatamente após a combustão.[137] No caso de Cu, Fe, Pb, V e Zn, estes elementos apresentaram boas recuperações somente com o uso de um ácido concentrado como solução absorvedora.

Enxofre foi determinado em carvão por titulação potenciométrica após a decomposição em bomba de combustão.[138] Foi constatado que o ponto crítico na manipulação do sistema era a lavagem dos eletrodos e da válvula de escape dos gases.

A decomposição com bomba de combustão também foi utilizada para o preparo de amostras biológicas e posterior determinação de Ca, Cu, K, Mg, Na, P, S, Zn e I por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acopla-

do (ICP OES).[129] Neste caso, foi demonstrado que soluções de 0,1% (v/v) HNO_3 ou de 10% (v/v) CFA-C podem ser empregadas como soluções absorvedoras para os elementos estudados, com exceção de iodo, que deve ser absorvido na solução de CFA-C. Além disso, para amostras de leite em pó foi necessária a adição de um auxiliar de combustão (etanol ou parafina) para aumentar a eficiência da combustão. Finalmente, uma etapa de resfriamento após a combustão foi imprescindível para a obtenção de bons resultados.

O método da bomba de combustão também foi utilizado para a decomposição de óleos lubrificantes,[130] amostras biológicas,[129] alimentos,[139] polímeros,[140] sedimentos,[141] efluentes,[131] e para a decomposição de combustíveis, petróleos e carvão.[136,142]

Adicionalmente, a decomposição com bomba de combustão foi utilizada para a determinação de Hg em alfafa e arroz,[143,144] C em plantas,[145] As e Se em manteiga,[130] Ti em polietileno,[140] S em carvão,[146] S, N e Cl em carvão,[132] F em carvão,[147] Cl e S em efluentes,[148,149] P, Cl e S em materiais biológicos.[150] A Tabela 11.8 apresenta as condições utilizadas para a decomposição de materiais orgânicos com bomba de combustão.

De maneira similar ao sistema de combustão de Schöniger e apesar de sistemas mais modernos, a bomba de combustão é recomendada em vários compêndios oficiais[125,151] e disponível comercialmente.[152]

Tabela 11.8. Decomposição de materiais orgânicos em bomba de combustão.

Amostra	Elemento	Condições gerais	Determinação	Referência
Amostras biológicas (cistina e metionina)	S	Massa de amostra: 1000 mg + 1000 mg de amido (auxiliar de combustão), 30 atm de O_2, solução absorvedora 1 mL de H_2O	Espectrometria de massas com diluição isotópica	153
Artigos domésticos: embalagens, brinquedos, tecidos, etc	F, Cl, Br	Massa de amostra: 100 mg, frasco de 350 mL, 30 atm O_2, solução absorvedora 2,54 g L^{-1} Na_2CO_3 e 2,52 g L^{-1} $NaHCO_3$	IC	154
Carvão, tecido animal e vegetal	As	Massa de amostra: < 1500 mg, 25 atm de O_2, solução absorvedora 10 mL de 1,4 mol L^{-1} HNO_3 e 10 min de resfriamento em banho-maria	GFAAS	155
Carvão	Te	Massa de amostra: 500 mg, 30 atm de O_2, 0,5 g de amido como auxiliar de combustão e 3 mL de H_2O como solução absorvedora	GFAAS	156

Tabela 11.8. Decomposição de materiais orgânicos em bomba de combustão. (cont.)

Amostra	Elemento	Condições gerais	Determinação	Referência
Carvão	As	---*	ICP OES	157
Carvão	Be, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb,V e Zn	Massa de amostra: 1000-1200 mg, 15 atm de O_2, solução absorvedora 10 mL de 10% HNO_3 e 15 min de resfriamento em banho-maria	FAAS	158
Carvão	Cl	Massa de amostra: 1000 mg, 25-30 atm de O_2, 1000 mg MgO + Na_2CO_3, solução absorvedora 5 mL de 10% $(NH_4)_2CO_3.H_2O$ e 15 min de resfriamento em banho-maria	FAAS (indireto)	159
Carvão	F, Cl	Massa de amostra: 1000 mg, 20-30 atm O_2, solução absorvedora Cl: 5 mL de 0,75 mol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$. H_2O e F: 5 mL de 1 mol L^{-1} NaOH	IC	160
Carvão e minerais	F	Massa de amostra: 1000 mg, 20-30 atm de O_2, solução absorvedora 5 mL de 1 mol L^{-1} NaOH e 15 min de resfriamento em banho-maria	ISE	142
Cinza e silicatos	B	Massa de amostra: 1000 mg, solução absorvedora 2 mL de H_2O e 10 min de resfriamento	ICP OES	161
Carvão e xisto	Cl, F, N e S	Óleo branco como auxiliar de combustão, 30 atm de O_2 e solução absorvedora 5 mL de H_2O	IC	132
Combustível e resíduo	Br, Cl, F, P e S	Massa de amostra: < 1000 mg + 500 mg de querosene (auxiliar de combustão), frasco de 300 mL, 25 atm de O_2, e solução absorvedora 10 mL de 25 g L^{-1} K_2CO_3 + 5 gotas de H_2O_2	IC	136
Compostos orgânicos de fluoreto e ar	F	etileno glicol (auxiliar de combustão), 30 atm de O_2, solução absorvedora 5 mL de 1 mol L^{-1} NaOH e 10 min de resfriamento em banho-maria	ISE	162
Fígado e músculo bovino, farelo de milho, leite em pó integral	Ca, Cu, I, K, Mg, Na, P, S e Zn	Massa de amostra: 250-500 mg + 500 mL de etanol e 35-40 mg (auxiliar de combustão), frasco de 340 mL, 25 atm de O_2, solução absorvedora 5 mL de 0,1% HNO_3 ou de 10% CFA-C e 5-10 min de resfriamento em banho-maria	ICP OES	129
Folhas de citros, leite em pó desnatado, tecido de ostra	I	Massa de amostra: 20-400 mg, solução absorvedora ácido acético 5%	UV–geração fotoquímica-ICP-MS	163

Tabela 11.8. Decomposição de materiais orgânicos em bomba de combustão. (cont.)

Amostra	Elemento	Condições gerais	Determinação	Referência
Madeira	Cl e S	Solução absorvedora 10 mL de água.	IC	164
Madeira	S	Massa de amostra: 70 mg de amostra + 1 mL de etanol (auxiliar de combustão), 30 atm O_2, solução absorvedora 10 mL de 1 mol L^{-1} NaOH	ICP OES	165
Manteiga e plásticos	As e Se	Massa de amostra: 600-1000 mg, 25 atm de O_2 + 1-butanol (auxiliar de combustão), solução absorvedora 10 mL de H_2O e 10 min de resfriamento	HGAAS	130
Óleo de canola	S	Massa de amostra: 1500 mg, 30 atm de O_2, solução absorvedora 5 mL de H_2O e 15 min de resfriamento em banho-maria	IC	166
Óleo diesel	S	---*	ICP OES	167
Peças automotivas	Br, Cl e F	Massa de amostra: 750 mg, frasco de 200 mL, 30 atm de O_2 e solução absorvedora Na_2CO_3/$NaHCO_3$ em 1% H_2O_2	IC	168
Petróleo	Elementos terrasraras	Massa de amostra: 1000 mg, 30 atm de O_2, solução absorvedora 5 mL de 5% HNO_3 + 1% H_2O_2	ICP-MS	169
Polímeros de materiais elétricos e eletrônicos	Cl e Br	Massa de amostra: 200-250 mg, 30 atm O_2, solução absorvedora 10 mL de H_2O	IC	170
Resíduo	Cl e S	Massa de amostra: 300-500 mg, frasco de 300 mL, 30 atm de O_2, solução absorvedora 5 mL de 1% H_2O_2 e 30 min de resfriamento	IC	171
Resíduo	Cl e S	30 atm de O_2, solução absorvedora 25 mL de 3% H_2O_2 e resfriamento em banho-maria	Espectrofotometria e nefelometria	149
Resíduo sólido	Cl	Massa de amostra: 1000 mg, 30 atm de O_2 e solução absorvedora 5 mL de 5% Na_2CO_3	ISE	
Resíduo de incineração	Cl, F e S	0,8 até 1,5 mL de parafina (auxiliar de combustão), 34 bar de O_2, cápsula de acetobutirato + solução absorvedora 10 mL de 0,5 mol L^{-1} NaOH + 0,1 mL de 30% H_2O_2, frasco de combustão de quartzo, 15 min de resfriamento em banho de gelo e 3 min de agitação	IC	133

Tabela 11.8. Decomposição de materiais orgânicos em bomba de combustão. (cont.)

Amostra	Elemento	Condições gerais	Determinação	Referência
Sedimento	S	Massa de amostra: 1 mL de sobrenadante (1g MgO + tolueno), 30 atm de O_2, solução absorvedora 15 mL de 1,8 mmol L^{-1} Na_2CO_3 + 1,7 mmol L^{-1} $NaHCO_3$, frasco de combustão de quartzo e 10 min de resfriamento em banho-maria	IC	141
Tecido de peixe	Hg	Massa de amostra: 500 mg, 20 atm de O_2, solução absorvedora 10 mL de H_2O e 5 min de agitação	CVAAS	172
Tecido de peixe	Se	Massa de amostra: 500 mg, 20 atm de O_2, frasco de 300 mL, solução absorvedora 10 mL de H_2O e 5 min de agitação	CSV	134
Sedimento	S	Massa de amostra: 1000 mg, 30 atm O_2, solução absorvedora 1 a 5 mL de H_2O	ICP OES	173

* informações indisponíveis em inglês ou português

FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama; GFAAS: espectrometria de absorção atômica com forno de grafite; HGAAS: espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto; CVAAS: espectrometria de absorção atômica com geração de vapor a frio; ICP OES: espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente; ICP-MS: espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente; CSV: voltametria de redissolução catódica; ISE: potenciometria com eletrodo íon seletivo; IC: cromatografia de íons

11.9. COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS EM SISTEMA FECHADO

O sistema de combustão iniciada por micro-ondas (MIC, do inglês *microwave-induced combustion*) foi proposto com o objetivo de associar as vantagens da digestão por via úmida com aquecimento por radiação micro-ondas e da combustão em sistemas fechados, como a bomba de combustão e o frasco de combustão de Schöniger.[174,175] As principais características da combinação destas técnicas são: *i*) alta eficiência de decomposição de matrizes orgânicas, *ii*) baixos valores de brancos, *iii*) economia de tempo, *iv*) emprego de materiais inertes, *v*) emprego de frascos de alta pressão, *vi*) baixos teores de carbono residual, *vii*) emprego de massas de amostra relativamente elevadas, até 1000 mg, *viii*) obtenção de soluções compatíveis com diferentes métodos de determinação, *ix*) apropriada para a determinação tanto de metais como de não metais e *x*) mínimo consumo de reagentes.

De maneira geral, a MIC possibilita a decomposição de amostras orgânicas em frascos fechados pressurizados com oxigênio, onde a etapa de ignição é feita através da radiação micro-ondas, sem a necessidade de conexões elétricas ou outros tipos de materiais. Após a combustão, os analitos são absorvidos em uma solução apropriada e uma etapa de refluxo pode ser aplicada, quando necessário, para garantir a recuperação quantitativa dos analitos. Este método foi adaptado para um forno de micro-ondas (*Multiwave 3000*®, Anton Paar GmbH, Graz, Áustria) originalmente desenvolvido para decomposição por via úmida em sistema fechado.[175] Neste caso, frascos de quartzo, bem como um sistema de controle de pressão e temperatura (condições máximas de operação 80 bar e 280 °C, respectivamente), são utilizados sem necessidade de modificações do sistema original, ou seja, o mesmo equipamento e frascos de digestão podem ser usados para a decomposição por via úmida ou empregando a MIC.

Para o procedimento de combustão, um dispositivo de quartzo é inserido no interior do frasco de decomposição e este serve tanto como suporte para a amostra, como para proteção da tampa de PTFE.[176] Os detalhes do frasco de decomposição e do suporte para a amostra são mostrados na Figura 11.11.

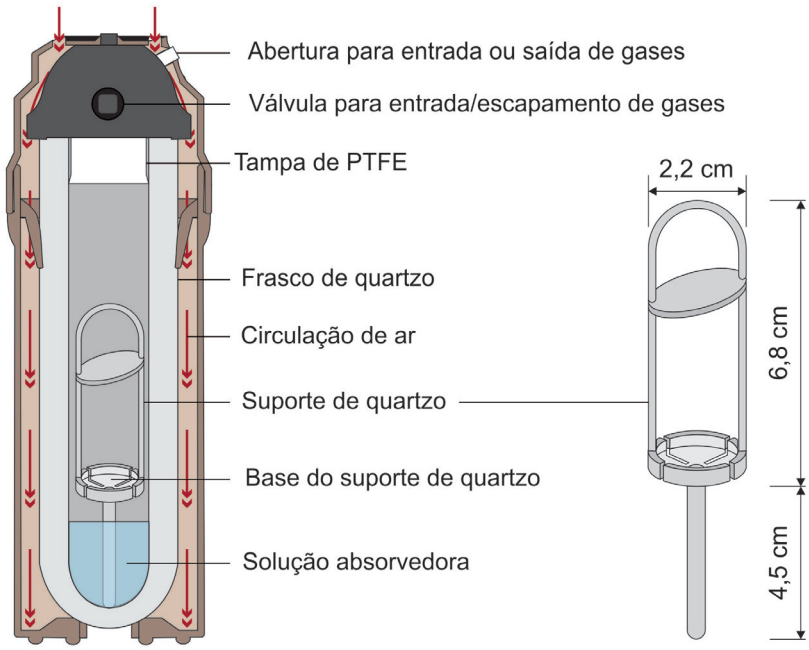

Figura 11.11. Frasco de quartzo e suporte empregados no procedimento de combustão iniciada por micro-ondas. Adaptada de Mesko, 2008.[177]

O procedimento de decomposição por MIC consiste, basicamente, em pesar uma massa adequada de amostra (em geral 500 mg) na forma de comprimido e colocar na base do suporte de quartzo contendo um disco de papel filtro (cerca de 15 mm de diâmetro, ~15 mg) umedecido com 50 µL de 6 mol L^{-1} NH_4NO_3. Imediatamente após este procedimento, o suporte com a amostra é inserido dentro do frasco de decomposição contendo 6 mL da solução absorvedora. O volume da solução absorvedora corresponde ao volume mínimo recomendado pelo fabricante do equipamento para prevenir danos durante a decomposição. Após o fechamento dos frascos com a tampa de PTFE, os mesmos são inseridos em capas protetoras e fixados ao rotor. A seguir, os frascos são pressurizados com oxigênio, por cerca de 20 s a 1 min, através do orifício para entrada/saída de gases. Posteriormente, a válvula de cada frasco é fechada e o rotor é levado à cavidade do forno. A visualização do processo de combustão é mostrada na Figura 11.12.

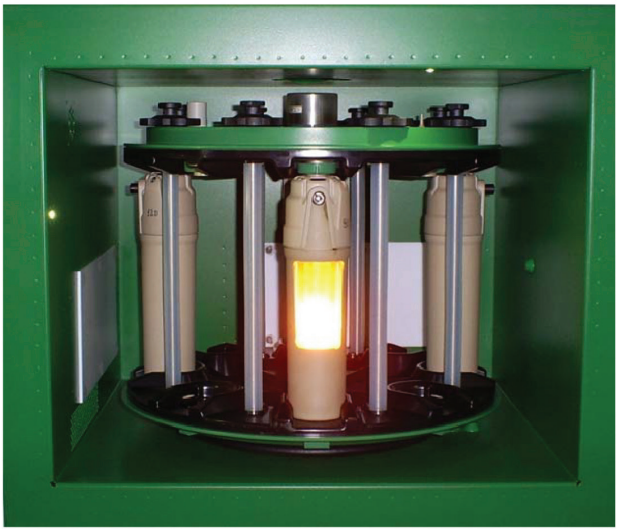

Figura 11.12. Visualização do processo de combustão iniciada por radiação micro-ondas. Fotografia tirada após modificações nos dispositivos de segurança do forno de micro-ondas apenas para demonstração.

A ignição é, normalmente, feita utilizando uma solução de 6 mol L^{-1} NH_4NO_3 que é adicionada a um pequeno disco de papel. Apesar desta solução ser a mais empregada, outras substâncias também podem ser usadas como $Ca(NO_3)_2$, KNO_3, $Mg(NO_3)_2$ e $NaNO_3$.[178] Recentemente, foi demonstrado que a ignição é dependente da concentração de nitrato (> 1 mol L^{-1}) e da potência da radiação micro-ondas (acima de 750 W). O mecanismo proposto sugere que a irradiação

com micro-ondas aquece a solução contendo nitrato, sendo que este inicia um processo de oxidação do papel. Esta reação libera energia suficiente para uma reação em cadeia que, na presença de elevada pressão de O_2, dá início à reação de combustão. A ignição ocorre, normalmente, em menos de 10 s.

O início do processo de combustão, bem como a variação da pressão durante o programa de aquecimento, podem ser acompanhados por um gráfico semelhante ao mostrado na Figura 11.13.

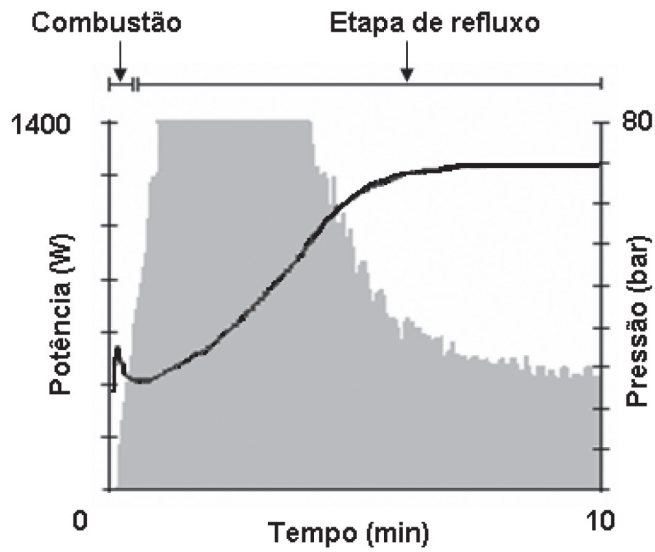

Figura 11.13. Perfil típico da variação da pressão (linha preta) durante a decomposição por MIC; em cinza é mostrada a potência da radiação micro-ondas aplicada.

Em geral, a pressão máxima atingida durante a combustão é menor que 60 bar (para 500 mg de amostra), o que corresponde a 75% do valor da pressão estabelecida pelo fabricante para a operação do equipamento (80 bar).

A combustão iniciada por radiação micro-ondas apresenta algumas vantagens sobre outros métodos de decomposição por combustão empregando sistemas comerciais:

i) combustão de até 1000 mg de amostra em um frasco de volume relativamente pequeno, embora para algumas matrizes e sob condições especiais, massas maiores possam ser usadas;

ii) o frasco usado para decomposição por via úmida convencional é o mesmo usado neste método e não é necessária nenhuma alteração no modelo do frasco, partes do rotor e sistemas de controle de pressão;

iii) até oito amostras podem ser decompostas simultaneamente; os demais sistemas (bomba de combustão e frasco de Schöniger) permitem o processamento de apenas uma amostra em cada ciclo de combustão;

iv) a ignição é feita por radiação micro-ondas em forno, geralmente, com cavidade (multimodo) como na decomposição por via úmida, não havendo a necessidade da utilização de dispositivos para ignição, como eletrodos metálicos ou lâmpadas de radiação infravermelha (observação: fornos do tipo monomodo, com radiação focalizada, também podem ser empregados);

v) a etapa de descontaminação é simples e rápida (cerca de 30 min);

vi) os valores obtidos para os brancos são, relativamente, baixos;

vii) a temperatura atingida durante a combustão é superior a 1000 °C, assegurando a completa destruição da matriz orgânica, inclusive compostos relativamente estáveis (*e.g.* grafite, nanotubos de carbono, carbamazepina, arsenobetaína);

viii) ao contrário dos sistemas envolvendo a bomba de combustão e frasco de Schöniger, a MIC permite que uma etapa de refluxo seja feita após a combustão, o que assegura uma eficiente remoção de partículas que estejam aderidas às paredes internas do frasco, além de, auxiliar na decomposição de material não decomposto (ácido nítrico concentrado pode ser usado sem danos ao sistema).

Para fins de comparação, a Tabela 11.9 mostra as principais características da bomba de combustão, do frasco de combustão de Schöniger e da combustão iniciada por radiação micro-ondas.

11.9.1. Principais aplicações

Inicialmente, o sistema de decomposição por combustão iniciada por radiação micro-ondas foi aplicado para a determinação de Fe, Zn e Mn em estearato de magnésio e em fitoterápicos por FAAS, além de P e Se em material de referência certificado de rim de porco por ICP OES, assim como para decomposição de leite em pó e determinação subsequente de Cd e Cu por GFAAS como demonstração do princípio e potencialidades do método.[174,175] Apesar das aplicações iniciais serem voltadas para amostras biológicas[174,179] e determinação de elementos metálicos, a MIC mostrou-se adequada também para a decomposição de outras matrizes mais complexas e mais difíceis de serem decompostas, tais como fármacos e elastôme-

Tabela 11.9. Comparação de métodos de combustão em sistemas fechados.

Parâmetro	Bomba de combustão	Frasco de Oxigênio	MIC
Pressão de O_2 (atm)	Até 30	Pressão atmosférica	Até 25
Massa de amostra (g)	0,5 até 1,5	0,05 até 0,1*	Até 1,0
Etapa de refluxo	Não permitida	Não permitida	Disponível
Principal aplicação	Não metais	Não metais	Metais e não metais
Taxa de amostragem	Uma amostra por ciclo	Uma amostra por ciclo	Até oito amostras por ciclo
Contaminação/perda	Contaminação por partes metálicas	Em algumas aplicações, ocorre adsorção do analito no suporte de Pt	Mínimo risco, pois usa frascos e suportes de quartzo de alta pureza
Tipo de ignição	Elétrica	Elétrica, infravermelho e manual	Radiação micro-ondas
Controle de pressão e temperatura	Não possui	Não possui	Controle simultâneo de pressão e temperatura

* massa de amostra para sistemas disponíveis comercialmente

ros.[174,180,181] Ademais, mostrou-se particularmente conveniente para a determinação subsequente de não metais. Uma evidência da grande aceitação deste método foi seu emprego pelo NIST em 2015 (*National Institute of Standards and Technology*) para a certificação da concentração de enxofre em carvão sub-betuminoso (NIST, SRM 2682c).[182]

A MIC tem sido utilizada, também, para a decomposição de petróleo, coque e resíduo de vácuo para determinação subsequente de cloro[183] e enxofre.[184] Posteriormente, a MIC foi utilizada para a decomposição de carvão, coque petroquímico e alimentos para a subsequente determinação de Br, Cl, F e I.[177,160] Outras aplicações envolvem materiais de difícil decomposição, como polímeros diversos (inclusive PVC e PTFE), grafite, além de nanotubos de carbono. Por outro lado, nota-se uma crescente aplicação da MIC para a determinação posterior de halogênios por técnicas espectrométricas com plasma induzido e por cromatografia de íons.

Na Tabela 11.10 são detalhadas as condições para a decomposição de diversas amostras, bem como os principais métodos de determinação utilizados.

Nas aplicações da MIC para a decomposição de amostras biológicas normalmente não é necessário o uso de reagentes concentrados e ácidos ou álcalis diluídos podem ser utilizados na maior parte das aplicações. Uma etapa de 5 a 10 min

Tabela 11.10. Condições para a decomposição de amostras orgânicas por MIC.

Amostra	Analitos	Condições gerais	Métodos de determinação	Referência
Ácidos húmicos	Br, Cl e I	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP-MS	185
Alga marinha comestível	Br e I	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 150 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	186
Amido e farelo de milho, farinha de trigo, fígado e músculo bovino, leite em pó integral e desnatado	I	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$ ou 56 mmol L^{-1} hidróxido de tetrametilamônio, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	187
Camarão e suas frações (resíduos e massa corpórea)	Br e I	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	188
Camarão e suas frações (resíduo e massa corpórea) *in natura* e após processo de cocção	Br e I	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	189
Carvão	As, Cd, Hg e Pb	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 5-7 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS e FI-CVG-ICP-MS	190
Carvão	S	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 5 mL de 14,4 mol L^{-1} HNO_3 + 4 mL de H_2O_2 30%, 20 bar de O_2 e 60 min de refluxo	SF-ICP-MS	181
Concentrado para ração animal	Ca, Mg, Mn, P e Zn	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 5 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	191
Coque de petróleo	Cl	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora H_2O, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC	192
Coque de petróleo	Cl^- e SO_4^{2-}	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP OES	193
Coque de petróleo	Mn e Ni	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 2 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	194
Coque de petróleo	S	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^1 $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP OES	195
Difenilmetano dianilina	Fe, Mg, Mn e Na	MIC: 200 mg de amostra. Solução absorvedora 14,4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	196
Engraulis anchoita	As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se e Zn	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 5 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	197
Fígado bovino	Cd e Cu	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 14 mol L^{-1} HNO_3, 15 bar de O_2 e 5 min de refluxo	GFAAS	174

Tabela 11.10. Condições para a decomposição de amostras orgânicas por MIC. (cont.)

Amostra	Analitos	Condições gerais	Métodos de determinação	Referência
Fígado bovino	Cu e Zn	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	FAAS	178
Formulações farmacêuticas, leite e plantas.	I	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 0,25-0,50 mol L^{-1} NaOH + H_2O_2 (30%), 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	CVG-ICP OES	198
Grafite	Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Sr, V e Zn	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	199
Grafite flexível de elevada pureza	Ag, As, Bi, Cd, Ga, Hg, In, Pb, Sb, Sn e Zn	MIC: 100 mg de amostra + 300 mg de celulose microcristalina. Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3 para Ag, As, Cd, Ga, Hg, In, Pb e Zn e uma mistura de HNO_3 e HCl concentrado (3:1) para Bi, Sb e Sn, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e CVG-AAS	200
Grafite flexível de elevada pureza	Cl e S	MIC: 25 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} NH_4OH ou 250 mmol L^{-1} H_2O_2, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP OES	201
Gel de poliacrilamida	Ca, Cu, K, Mg, Mn e Zn	MIC: 1-3 mg de amostra. Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3, 15 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	202
Ingredientes farmacêuticos ativos	Br e I	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP-MS	203
Ingredientes farmacêuticos ativos tricíclicos	As, Cd, Hg e Pb	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 7 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	203
Leite em pó para nutrição adulta e infantil	Br e I	MIC: 700 mg de amostra. Solução absorvedora 25 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	205
Mel	Br e I	MIC: 1000 mg de amostra + 400 mg de celulose microcristalina. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	206
Nanotubos de carbono	Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mg, Mn e Pb	MIC: 50 mg de amostra Solução absorvedora 14,4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	207
Nanotubos de carbono	Br e I	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 100 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	208
Nanotubos de carbono	Br, Cl, F e I	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 100 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP-MS	209
Nanotubos de carbono	Co, Cr, Fe, Hg, Mo, Ni e Pb	MIC: 25 mg de amostra Solução absorvedora mistura contendo HNO_3 e HCl (3:1), 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	210
Nanotubos de carbono	F	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 100 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ISE	211

Tabela 11.10. Condições para a decomposição de amostras orgânicas por MIC. (cont.)

Amostra	Analitos	Condições gerais	Métodos de determinação	Referência
Nanotubos de carbono	La e Ni	MIC: 400 mg de amostra Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3 ou 4 mol L^{-1} HCl, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	212
Nozes	As, Cd, Hg e Pb	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 7 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS e FI-CVG-ICP-MS	213
Óleo diesel	S	MIC: 400 mg de amostra. Solução absorvedora 2 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	214
Petróleo leve e pesado	Ag, As, Ba, Bi, Ca, Cd, Cr, Fe, K, Mg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, V e Zn	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 2 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	215
Petróleo extrapesado	As, Ba, Co, Mn, Mo, Ni, Pb e V	MIC: 300 mg de amostra Solução absorvedora 3,75 mL de HNO_3 (conc.) + 0,25 mL H_2O_2 + 4 mL de H_2O, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	216
Petróleo leves e pesados	Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sm, Tb, Tm, Y e Yb	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 3 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	USN-ICP-MS	217
Petróleo: resíduo de destilação a vácuo	Cl	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora H_2O, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC	218
Petróleo extrapesado	Cl, S	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 25 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP OES	219
Piche	Ba, Ca, Cd, Fe, Mg, Pb, Sr, V e Zn	MIC: 400 mg de amostra Solução absorvedora 3 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e XRF	220
Piche	Br, Cl, I e S	MIC: 400 mg de amostra Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	221
Plantas	F	MIC: 150 mg de amostra Solução absorvedora TISAB, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ISE	222
Polímero: elastômeros	Al, Fe, Mn, Sr e Zn	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	181
Polímero: elastômeros	Br e Cl	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC, ICP OES e ICP-MS	223
Polímeros: Nylon 6,6, PEEK, PE, PET e PS	As, Bi, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sr, Ti, V e Zn	MIC: 300 mg de amostra Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3 + 4 mol L^{-1} HCl, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	224
Polímero: poli(cloreto de vinila)	Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V e Zn	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 3 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	225

Tabela 11.10. Condições para a decomposição de amostras orgânicas por MIC. (cont.)

Amostra	Analitos	Condições gerais	Métodos de determinação	Referência
Polímero: PTFE, PTFE-TFM e FEP	Ag, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Ni	MIC: 500 mg de amostra. Solução absorvedora 5 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	226
Polímero: poliimida de elevada pureza	F, Cl, Br, I e S	MIC: 600 mg de amostra Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP-MS	227
Polímeros	Br	MIC: 250 mg de amostra Solução absorvedora 8 mmol L^{-1} Na_2CO_3 e 1 mmol L^{-1} $NaHCO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC	228
Produtos farmacêuticos	As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V	MIC: 1 comprimido (400 a 700 mg) Solução absorvedora 2,8 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	229
Produtos farmacêuticos	As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru e V	MIC: 125 mg de amostra Solução absorvedora 14,4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	230
Proteínas do soro do leite	Br e I	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 25 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	231
Ração para pequenos animais	Cl	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 10 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ISE	232
Resíduos de equipamentos elétricos e eletrônicos	As, Br, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb e Zn	MIC: 400 mg de amostra Solução absorvedora 7 mol L^{-1} HNO_3 + 2 mol L^{-1} HCl (metais e metalóides) ou 50 mmol L^{-1} NH_4OH (Br), 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES, ICP-MS, FI-CVG-ICP-MS e DRC-ICP-MS	233
Resíduos da destilação do petróleo	Cl	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 25 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP OES	234
Resíduos da destilação do petróleo	Cl	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 25 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC	235
Resíduos da destilação do petróleo	Ni, S e V	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 2 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	236
Resíduos da destilação do petróleo	S	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	237
Soja e seus produtos	Br, Cl e I	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 100 mmol L^{-1} NH_4OH, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS	238
Solo (teor de cinzas < 96%)	As, Cd, Hg e Pb	MIC: 300 mg de amostra + 300 mg de celulose microcristalina Solução absorvedora 2 mol L^{-1} HNO_3 + 2 mol L^{-1} HCl, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS, ICP OES e CVG-ICP-MS	239
Solo	Br, Cl e I	MIC: 200 mg de amostra Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC e ICP-MS	240

Tabela 11.10. Condições para a decomposição de amostras orgânicas por MIC. (cont.)

Amostra	Analitos	Condições gerais	Métodos de determinação	Referência
Solo (teor de cinzas < 96%)	Hg	MIC: 300 mg de amostra + 300 mg de celulose microcristalina Solução absorvedora 0,25 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	FI-CVG-ICP-MS	241
Tabaco	Br, Cl e F	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	IC	242
Tabaco	Br e Cl	MIC: 50 mg de amostra Solução absorvedora 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	243
Tecido de mexilhão, tecido de peixe e camarão	As	MIC: 500 mg de amostra Solução absorvedora 0,1 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP-MS, FI-HG-ICP-MS e FI-HGAAS	244
Temperos vegetais: manjericão, orégano, salsinha, coentro, cebolinha	Al, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni, Sr, V e Zn	FMIC: 3000 mg de amostra Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES e ICP-MS	245
Peumus boldus sp.	Al, Ba, Ca, Fe, Mg, Mn, Sr e Zn	FMIC: 1500 mg de amostra Solução absorvedora 4 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	246
Leite em pó para nutrição adulta e infantil	Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Sr, V e Zn	FMIC: 3000 mg de amostra Solução absorvedora 2 mol L^{-1} HNO_3, 20 bar de O_2 e 5 min de refluxo	ICP OES	247

de refluxo, aplicada após o processo de combustão, é recomendada para assegurar resultados quantitativos e com menor variação nas medidas.

Para a decomposição de elastômeros e subsequente determinação de Al, Fe, Mn, Sr e Zn por ICP OES foi possível utilizar uma solução de 4 mol L^{-1} de HNO_3, quando foi aplicada uma etapa de refluxo de 5 min.[181] O procedimento leva 25 min para ser efetuado o que é relativamente rápido quando comparado aos procedimentos por via seca recomendados por normas oficiais.[248] Ademais, de acordo com a norma o resíduo da decomposição deve ser solubilizado em 6 mol L^{-1} HCl o que dificulta a utilização do digerido por alguns métodos de determinação.

A decomposição de géis de poliacrilamida, usados em eletroforese para a separação de metaloproteínas, também foi feita por MIC para a determinação de Ca, Cu, K, Mg, Mn e Zn por ICP OES e ICP-MS.[202] Após a extração, as proteínas presentes em amostras de sementes de soja foram separadas em gel de poliacrilamida contendo sódio dodecil sulfato (SDS-PAGE) de acordo com sua massa molar. Diferentes regiões do gel foram selecionadas e decompostas. Assim, a concentração dos metais determinados foi correlacionada com a massa molar de cada metaloproteína.

A MIC foi aplicada para a decomposição de fármacos tricíclicos para a determinação de As, Cd, Hg, e Pb por ICP-MS. Neste caso, é importante destacar a dificuldade de decomposição deste tipo de amostra por outros métodos, devido à estabilidade deste tipo de molécula orgânica, mesmo quando submetida a condições drásticas de pressão e temperatura utilizando HNO_3 concentrado.[204]

A MIC também foi utilizada para a decomposição de petróleo extra-pesado, coque e resíduo de vácuo visando à determinação de cloro[183] e enxofre[184] por cromatografia de íons (IC) e ICP OES, respectivamente. Para a determinação de enxofre por ICP OES podem ser utilizadas soluções absorvedoras 0,5% (v/v) H_2O_2 ou 0,05 mol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$ com bons resultados.[184] Para as determinações de Cl por IC é recomendada a utilização de água como solução absorvedora, tendo em vista a adequabilidade com o método de determinação.[183] Além disso, a utilização de água como solução absorvedora possibilita a obtenção de brancos menores.

Recentemente, a MIC foi aplicada para a decomposição de carvão, coque petroquímico e amostras de alimentos para determinação de Br, Cl e I por IC, ICP OES e ICP-MS, e de F por ISE e IC.[177,160] Para a absorção destes elementos após a combustão, foi utilizada solução 50 mmol L^{-1} $(NH_4)_2CO_3$ e aplicação de uma etapa de refluxo de 5 min. Com esta solução é possível determinar os elementos por IC sem problemas de interferência. Nestas condições é possível, também, fazer a determinação de Br, Cl e I por ICP-MS e ICP OES, além da possibilidade de determinar F por ISE. Cabe destacar que as normas oficiais ASTM D 2361-02,[249] ASTM D 3761-96 (*reapproved* 2002)[250] e ASTM D 4208-02e1[251] recomendam a decomposição de carvão em bomba de combustão e subsequente determinação Cl e F por ISE ou titulação potenciométrica. Contudo, com a utilização da MIC é possível decompor, eficientemente, amostras de carvão e coque petroquímico e, com o uso de uma única solução absorvedora, é possível fazer a determinação de todos os halogênios por IC.

Cabe destacar a aplicação da MIC para a decomposição de nanomateriais, assim como a sua adequabilidade para a posterior determinação de elementos terras raras em petróleo e outras matrizes.

11.9.2. MIC aplicada para matrizes inorgânicas

Além dos diversos usos da MIC para a decomposição de amostras orgânicas a combustão iniciada por micro-ondas também vem sendo usada para a intro-

dução direta de amostras sólidas em espectrômetros de absorção atômica e, mais recentemente, passou a ser empregada para a volatilização de alguns elementos de matrizes inorgânicas. Essas alternativas serão brevemente discutidas a seguir.

11.9.2.1. Métodos de volatilização usando MIC

Apesar do sucesso da MIC para amostras de constituição orgânica, este método também pode ser aplicado para promover a volatilização de alguns elementos de amostras com fração inorgânica elevada. Essa volatilização é resultado da temperatura alcançada (> 1000 ^{o}C) durante a reação de combustão da fração orgânica da amostra. Porém, quando a temperatura alcançada pela combustão da amostra e do papel filtro é insuficiente para promover a volatilização dos analitos, um aditivo pode ser usado. Esses aditivos são combustíveis que, ao serem queimados, promovem o aumento de temperatura para que os analitos sejam volatilizados da fração inorgânica da amostra. Assim, os analitos podem ser separados da matriz e retidos em uma solução adequada. Um importante aspecto que deve ser ressaltado em relação ao uso da volatilização é a possibilidade de separação total dos analitos da matriz, sem precisar, necessariamente, de uma decomposição completa. Neste caso, como a matriz permanece no suporte, sem passar para a solução absorvedora, o risco de interferências durante da etapa de determinação é minimizado.

Inicialmente, um estudo foi feito para avaliar se a temperatura alcançada pela queima do papel filtro e da fração orgânica de amostras de solo seria suficiente para volatilizar todo o Hg presente (solo com teor de cinzas superior a 96%).[241] Porém, recuperações de apenas 65% foram alcançadas. Então, para aumentar a temperatura do meio e promover a volatilização quantitativa do analito, uma alternativa encontrada foi misturar à amostra de solo um pouco de celulose microcristalina. A queima da celulose proporcionou um aumento da temperatura suficiente para promover a completa volatilização do Hg das amostras e CRMs de solo estudados. Neste primeiro trabalho envolvendo o uso da MIC para volatização dos analitos, 300 mg de solo foram misturados com 300 ou 500 mg de celulose microcristalina e prensados no formato de um comprimido. O tempo de refluxo (5 min), potência de micro-ondas (1400 W), pressão inicial de oxigênio (20 bar) e volume de solução absorvedora (6 mL) foram os mesmos usados no procedimento convencional de MIC. Neste estudo, água, HNO_3 ou 0,25 mol L^{-1} HCl foram adequados para manter estável o Hg liberado das amos-

tras.[241] Posteriormente, um estudo similar foi feito para outros analitos. Usando HCl e HNO_3 (ambos na concentração de 2 mol L^{-1}), 300 mg de amostra + 300 ou 500 mg de celulose microcristalina, foi possível a completa separação de As, Cd, Hg e Pb de amostras de solos e sedimentos cm elevada fração inorgânica.[239]

Mais recentemente, a volatilização associada à MIC foi utilizada para a posterior determinação de Cl e F em cimento. Muito semelhante aos demais estudos realizados, a volatilização quantitativa dos analitos foi alcançada pelo uso de uma mistura de 100 mg de cimento e 300 mg de celulose microcristalina (apenas água foi usada como solução absorvedora). Uma atenção especial deve ser dada à forma como o cimento foi introduzido no frasco de combustão. Diferentemente das amostras de solo, o cimento e a celulose microcristalina foram misturados e envolvidos em um filme de polietileno, o qual foi fechado e posicionado sobre o disco de papel filtro no suporte de quartzo. A reação de combustão da celulose promoveu um aumento de temperatura suficiente para volatilizar todo Cl e F presentes no cimento para a posterior determinação por IC.[252]

Portanto, essa abordagem da MIC pode ser considerada uma alternativa bastante promissora para a determinação subsequente de elementos voláteis presentes em materiais inorgânicos. Destaca-se o uso apenas de soluções diluídas, o que minimiza a geração de resíduos, quando comparado aos procedimentos convencionais, e possibilita a obtenção de baixos valores de brancos analíticos e, consequentemente menores LODs e LOQs. Ainda, destaca-se que o uso de métodos de volatilização levam à completa separação do analito da matriz, o que é extremamente relevante para minimizar interferências durante a etapa de determinação.

11.9.2.2. Combustão iniciada por micro-ondas acoplada a espectrometria de absorção atômica com chama (MIC-FF-AAS)

Alternativamente, a MIC pode ser feita em um forno de micro-ondas doméstico, onde os gases formados pela reação de combustão da amostra são transferidos para o um espectrômetro de absorção atômica com chama.[253,254] Apenas a adaptação no forno de micro-ondas para permitir a entrada do O_2 na câmara de combustão (posicionada dentro da cavidade do forno de micro-ondas) e dispositivos para transporte dos gases gerados até o espectrômetro são necessários. A etapa de ignição é feita usando um disco de papel filtro umedecido com a solução de

nitrato de amônio (20 μL de 6 mol $L^{-1}NH_4NO_3$). Após a combustão da amostra, os gases gerados são levados da câmara de combustão diretamente para o equipamento, através de um tubo de PTFE conectado a um tubo de quartzo. As amostras podem ser introduzidas como comprimidos ou na forma de pó dentro de um invólucro em papel filtro. Para materiais botânicos, até 60 mg de amostra puderam ser eficientemente queimados nesse sistema de combustão iniciada por micro-ondas. Um dos parâmetros mais importantes desse sistema é a quantidade de oxigênio, que possibilita a completa combustão da amostra e, também, a transferência dos gases gerados ao equipamento.

O método foi aplicado para amostras botânicas e biológicas e a determinação de Cd e Pb foi feita por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).[253,254] Dentre as vantagens desse sistema, deve ser considerada a possibilidade de análise direta da amostra sólida sem etapa prévia de decomposição e a possibilidade de levar todo analito liberado da amostra para o equipamento, alcançando melhores limites de detecção. Adicionalmente, a etapa de calibração pode ser feita usando soluções aquosas, dispensando o uso de CRMs. Além disso, exatamente o mesmo procedimento pode ser aplicado para diferentes tipos de materiais, e até 20 determinações foram feitas em menos e uma hora. Ainda, não foram utilizados reagentes para etapa de preparo de amostras, nem mesmo o uso de soluções diluídas foi requerido, minimizando, assim, a geração de resíduos de laboratório.

11.10. COMBUSTÃO INICIADA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS FOCALIZADA EM SISTEMA ABERTO

Recentemente, a combustão iniciada por radiação micro-ondas focalizada (FMIC) foi proposta como uma alternativa para a decomposição de amostras orgânicas em sistema aberto. O método foi proposto para superar algumas limitações da MIC em função da limitada massa de amostra, bem como das decomposições por via úmida assistida por radiação focalizada, principalmente, no que diz respeito ao elevado volume de reagentes geralmente requerido.[246] Neste sentido, a FMIC combina as vantagens das decomposições por via úmida assistidas por radiação focalizada em frasco aberto com aquelas oriundas dos métodos de combustão.

Assim como descrito para a decomposição por MIC, a combustão é iniciada pela radiação micro-ondas em um forno micro-ondas comercial usando uma solução de nitrato de amônio para ignição. Para permitir a combustão da amostra usando a FMIC, um acessório especial foi construído para ser usado como suporte para a amostra, o frasco originalmente utilizado para a decomposição foi modificado para permitir a aplicação de uma determinada vazão de oxigênio e um condensador refrigerado a água foi utilizado na parte superior do frasco para minimizar os riscos de perdas por volatilização. Todavia, é importante enfatizar que o ponto crítico para viabilizar o uso da FMIC está relacionado com o suprimento de oxigênio para iniciar e manter o processo de combustão, pois uma vazão muito baixa pode não ser suficiente para a ignição do processo. Contudo, o uso de uma vazão muito levada de O_2 também pode não ser adequada uma vez que pode secar a solução de iniciadora da combustão e, consequentemente, a ignição pode não ocorrer.[245,246] Cabe ressaltar que, para evitar modificações no frasco de decomposição e assegurar quantidade suficiente de O_2 para completa queima da amostra, alguns sais, como clorato de potássio podem ser adicionados juntamente à solução de ignição, permitindo a liberação de oxigênio *in situ* após decomposição térmica.[191]

11.10.1. Arranjo experimental e procedimento para FMIC

O sistema de decomposição por FMIC foi desenvolvido em um forno de micro-ondas comercial com radiação focalizada (monomodo) convencionalmente utilizado para decomposição por via úmida com frascos abertos. Este sistema opera à pressão atmosférica e permite o controle independente da temperatura em cada cavidade. [218] Mais detalhes sobre o sistema e as condições de operação para aplicação em decomposições por via úmida podem ser obtidos no Capítulo 10 deste livro.

Para a etapa de ignição na FMIC, é aplicada a potência máxima da radiação micro-ondas. Este processo de ignição é similar ao da MIC, onde a combustão inicia em menos de 10 s. Para tanto são necessárias algumas gotas de uma solução de nitrato de amônio (6 mol L^{-1}) e um pequeno pedaço de papel filtro. A solução iniciadora da combustão é adicionada a um pequeno pedaço de papel filtro de forma a garantir que o processo de ignição seja reprodutível. O tempo necessário para a combustão da amostra é dependente da massa utilizada e da velocidade de reação. Da mesma forma que na MIC, as amostras podem ser introduzidas no sistema na

forma de comprimidos se forem sólidas, ou adequadamente envolvidas em material apropriado, se forem semi-sólidas ou líquidas.[2,206]

O suporte para a amostra na FMIC é ligeiramente diferente do usado para a MIC. No caso da FMIC, o ajuste da altura do suporte para a amostra ficar posicionada na região de maior incidência da radiação micro-ondas é essencial. O suporte deve ser construído em quartzo em vista da resistência a elevadas temperaturas durante o processo de combustão (superiores a 900 ºC), bem como por minimizar as interações dos analitos com o material. O suporte de quartzo é posicionado a, aproximadamente, 7 mm da parte inferior do suporte de frasco de decomposição. Nesta posição, o sistema apresenta melhor eficiência de ignição. A base do suporte, onde a amostra é posicionada, apresenta quatro pequenas ranhuras. Estas ranhuras são importantes para garantir a passagem de uma quantidade adequada de oxigênio em contato com a amostra, bem como para reduzir a superfície fria em contato com a amostra, que pode causar depósitos de carbono durante a combustão.

Medições feitas com termômetro de infravermelho registraram temperaturas sempre superiores a 950 °C para a combustão de 1,5 g de amostra botânica.[218] Conforme mencionado anteriormente, o ponto crucial para a decomposição por FMIC está relacionado ao suprimento de O_2 para iniciar e manter o processo de combustão. Assim, o frasco originalmente utilizado para as decomposições por via úmida foi modificado e foi inserida uma entrada de O_2, conforme ilustrado na Figura 11.14. Com este sistema, uma vazão de 2 L min^{-1} de O_2 foi adequada para que a ignição sempre ocorresse.[218] Todavia, para a combustão de massas de amostra mais elevadas é necessário aumentar a vazão de O_2 imediatamente após o processo de ignição, onde esta é geralmente aumentada para 15 L min^{-1} e mantida até que toda a amostra seja queimada. Nestas condições, o processo de combustão se sustenta mesmo sem a incidência da radiação micro-ondas e, assim, torna-se possível a queima de massas de amostra tão elevadas quanto 3 g.[244,246]

Diferentemente do método de decomposição por MIC (em frascos fechados), a etapa de ignição na FMIC é conduzida sem a adição inicial de solução ao frasco de decomposição. A solução absorvedora é adicionada após o término do processo de combustão. Esta sequência é necessária uma vez que se a solução é adicionada ao frasco de decomposição antes da combustão da amostra, esta pode aquecer rapidamente e ser evaporada. Como consequência, o papel filtro e a amostra podem ficar umedecidos dificultando a ignição e, como resultado, a combustão.

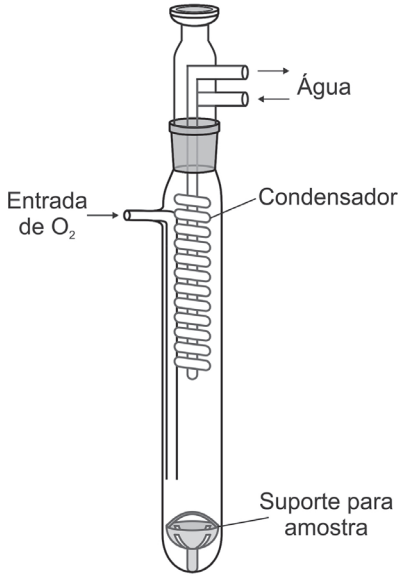

Figura 11.14. Frasco e suporte de combustão iniciada com radiação micro-ondas focalizadas (FMIC).

Após a combustão das amostras por FMIC, uma etapa de refluxo pode ser aplicada através da adição de uma solução absorvedora adequada aos analitos, usando o modo de adição de reagente disponível no sistema comercial do forno de micro-ondas com radiação focalizada. Todavia, especial atenção deve ser dada ao sistema de condensação, pois o sistema comercial de refrigeração a ar não foi adequado uma vez que a solução foi rapidamente evaporada depois de 1 min de aquecimento com radiação micro-ondas, deixando o frasco completamente seco. Nesse sentido, foi especialmente desenvolvido um sistema de condensação refrigerado com água para adaptação no frasco de decomposição do sistema comercial (Figura 11.15). Com esse sistema foi observado que a solução absorvedora foi completamente retida no frasco durante a aplicação da etapa de 5 min de refluxo.[218] Este tipo de "dedo frio" foi desenvolvido com base em trabalhos para sistemas de decomposição de amostras reportados na literatura desde a metade do século[18,36,40] e seu desempenho pode ser melhorado pelo uso de outros sistemas de resfriamento.[36]

É importante enfatizar que, embora o uso de frascos parcialmente abertos (tipicamente usados em fornos de micro-ondas com radiação focalizada), os brancos obtidos com a FMIC foram sempre baixos, provavelmente pelo uso de uma pequena quantidade de solução absorvedora e a possibilidade desta ser utilizada em concentrações bastante diluídas.[218,245,247] Além disso, cabe mencionar, que assim

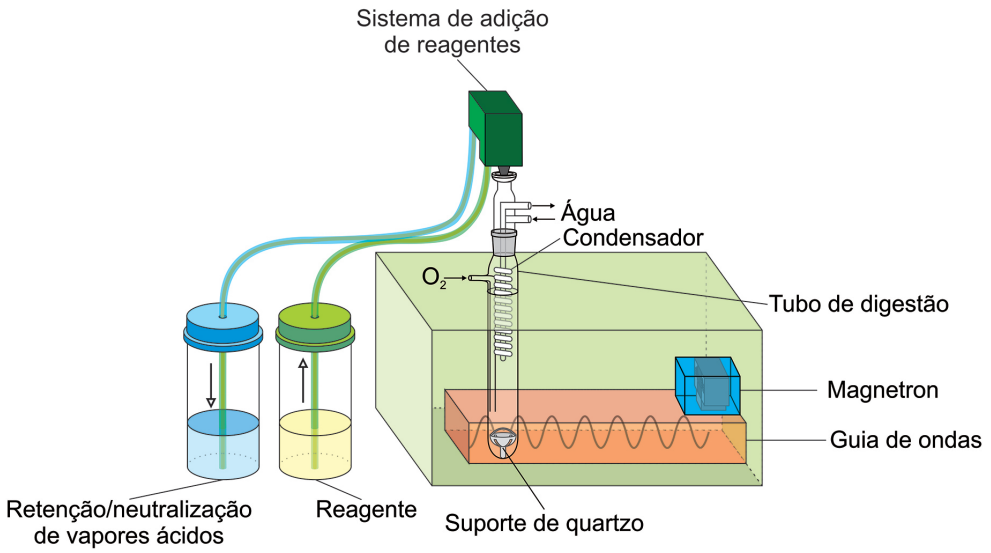

Figura 11.15. Sistema de combustão iniciada com radiação micro-ondas focalizadas.

como para a MIC, o processo de combustão usando a FMIC foi bastante eficiente obtendo-se digeridos com teores de carbono residual (RCC) inferiores a 1%.

11.10.2. Procedimento de decomposição por FMIC

O procedimento consiste em introduzir a amostra na forma de comprimido (0,1 a 3 g) em um suporte de quartzo sob um pequeno pedaço de papel filtro, previamente umedecido com 50 µL de uma solução 6 mol L^{-1} NH_4NO_3. O suporte é disposto no frasco de decomposição (sem solução absorvedora) e oxigênio é introduzido no frasco. Posteriormente, a radiação micro-ondas é aplicada a uma potência máxima (800 W), por 10 s. Obviamente o tempo de combustão depende da quantidade de amostra e da vazão do oxigênio mas, nas mesmas condições (massa de amostra e pressão de O_2), a taxa de combustão depende das características da amostra. Por exemplo, o tempo de combustão de um comprimido contendo 1,5 g de amostra botânica é de 80 e 120 s enquanto que 30 s são suficientes para queimar 100 mg da mesma amostra.[246]

Após a combustão da amostra e uma etapa de resfriamento (10 min), uma solução absorvedora (5 a 10 mL) é automaticamente adicionada no frasco de decomposição, usando o modo de adição de reagentes. A radiação micro-ondas pode ser aplicada (5 a 10 min) para melhorar a recuperação dos analitos devido ao

processo de refluxo da solução absorvedora no frasco de decomposição. É importante destacar que este sistema foi aplicado para a decomposição de amostras botânicas e biológicas para posterior determinação de metais. Com este sistema boas recuperações (95 a 105%) para diversos elementos foram obtidas usando ácido nítrico diluído como solução absorvedora.[218,245,247] Entretanto, este sistema não é adequado para a subsequente determinação de alguns elementos voláteis, mesmo com o uso do sistema de condensação refrigerado com água.

Considerando que o método de decomposição por FMIC foi recentemente proposto, existem poucas aplicações publicadas na literatura usando este sistema. Desta forma, informações sobre soluções absorvedoras para cada tipo de analito e tipo de amostra podem ser obtidas nas aplicações apresentadas na Tabela 11.8 para as decomposições por MIC.

11.11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos empregando combustão representam uma das alternativas mais adequadas para a decomposição completa de diversas amostras de natureza orgânica. Apesar do sucesso dos métodos clássicos e ainda disponíveis comercialmente (combustão em mufla, bomba de combustão, frasco de Schöniger e sistema de Wickbold), durante várias décadas poucas alterações foram propostas e os procedimentos recomendados atualmente apresentam poucas variações dos procedimentos originalmente desenvolvidos. Os sistemas clássicos são recomendados como métodos oficiais para as mais variadas aplicações (*e.g.* farmacopeias, EPA, ASTM). Esses sistemas mostram-se particularmente adequados para a determinação posterior de Hg e halogênios, além de diversos outros metais e não metais.

Entretanto, com o advento e maior popularização dos fornos de micro-ondas comerciais, no início da década passada houve o desenvolvimento de sistemas que permitem a ignição sem a necessidade de lâmpadas ou contatos elétricos (MIC e FMIC). Esses sistemas permitiram o processamento simultâneo de um número maior de amostras (MIC) e a possibilidade de uma etapa de refluxo (MIC e FMIC) que não é possível em outros sistemas. Um aspecto importante é que tanto a MIC como a FMIC permitem maior controle operacional por parte do analista, o que é cada vez mais necessário para a adequação aos requisitos crescentes de segurança.

Estas características tornam a MIC, particularmente, mais adequada para análises de rotina. Sob esse aspecto, alguns órgãos oficiais estão recomendando a MIC como uma alternativa aos sistemas clássicos, assim como método de referência para o estabelecimento de materiais certificados (NIST). Nos últimos anos a MIC foi aplicada a uma gama ampla de matrizes, principalmente sólidas e de natureza orgânica. Considerando-se os trabalhos mais recentes, espera-se para o futuro próximo maior aplicabilidade da MIC para novos materiais resistentes à decomposição por outros métodos, assim como para matrizes inorgânicas e, mesmo, combustíveis líquidos voláteis. A volatilização seletiva empregando a MIC é um procedimento atraente em vista da obtenção dos analitos em uma solução com reduzida concentração de compostos dissolvidos.

Com a melhor compreensão do mecanismo de ignição e combustão por MIC e FMIC, espera-se o desenvolvimento de procedimentos permitindo massas de amostras ainda maiores e aplicações específicas como, por exemplo, a determinação posterior de elementos terras-raras que é tida, ainda, como um desafio analítico. Considerando-se que a MIC e FMIC podem ser aplicadas em sistemas comerciais originalmente desenvolvidos para a decomposição ácida por via úmida (vide Capítulos 10 e 11), isso traz maior versatilidade aos usuários que podem optar pelo método de decomposição sem a necessidade de modificações instrumentais, com exceção do frasco de decomposição e suporte da amostra.

REFERÊNCIAS

1. BARNARD, J. A.; BRADLEY, J. N. **Flame and combustion**. 2nd ed. New York: Chapman and Hall, 1985. 308 p.
2. FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KNAPP, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels — A brief overview and recent applications. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 62, 1051-1064, 2007.
3. FLORES, E. M. M. **Microwave-assisted sample preparation for trace element determination**. Amsterdam: Elsevier, 2014. 400 p.
4. RAZUS, D.; MOVILEANU, C.; BRINZEA, V.; OANCEA, D. Explosion pressures of hydrocarbon–air mixtures in closed vessels. **Journal of Hazardous Materials**, 135, 58-65, 2006.

5. RAZUS, D.; MOVILEANUA, C.; OANCEA, D. The rate of pressure rise of gaseous propylene–air explosions in spherical and cylindrical enclosures. **Journal of Hazardous Materials**, 139, 1-8, 2007.

6. KNAPP, G. Mechanized techniques for sample decomposition and element preconcentration. **Mikrochimica Acta**, 2, 445–455, 1991.

7. ANDERSON, R. **Sample Pretreatment and Separation. Analytical Chemistry by Open Learning**. Chichester: John Wiley, 1991. 632 p.

8. BOCK, R. **A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry**. Glasgow: International Textbook, 1979. 444 p.

9. MADER, P.; SZÁKOVÁ, J.; ČURDOVÁ, E. Combination of classical dry ashing with stripping voltammetry in trace element analysis of biological materials: review of literature published after 1978. **Talanta**, 43, 521-534, 1996.

10. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª Edição ed. São Paulo: CENGAGE Learning, 2006. 999 p.

11. IYENGAR, G. V.; SANSONI, B. **Sample Preparation of Biological Material for Trace Element Analysis**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1980. p.

12. Agência Nacional da Vigilância Sanitária - ANVISA. Método 5.3.2.3. **Farmacopeia Brasileira**, Brasília 2010.

13. HOENIG, M.; BAETEN, H.; VANHENTENRIJK, S.; VASSILEVA, E.; QUEVAUVILLER, P. Critical discussion on the need for an efficient mineralization procedure for the analysis of plant material by atomic spectrometric methods. **Analytica Chimica Acta**, 358, 85-94, 1998.

14. IYENGAR, G. V.; SUBRAMANIAN, K. S.; WOITTIEZ, J. R. W. **Element Analysis of Biological Samples – Principles and Pratice**. Boca Raton: CRC Press, 1997. 272 p.

15. JORHEM, L. Dry ashing, sources of error, and performance evaluation in AAS. **Microchimica Acta**, 119, 211-218, 1995.

16. CEM CORPORATION. Phoenix Microwave System with Sulfated Ashing Option. Disponível em: http://www.cem.com/content1338.html. Acessado em: 14 de junho de 2016.

17. MILESTONE INC. PYRO and PYRO SA. Disponível em: http://www.milestonesrl.com/en/microwaveashing/pyro-and-pyro-sa.html. Acessado em: 14 de junho de 2016.

18. RAPTIS, S. E.; KNAPP, G.; SCHALK, A. P. Novel method for the decomposition of organic and biological materials in an oxygen plasma excited at high frequency for elemental analysis. **Fresenius Zeitschrift für analytische Chemie**, 316, 482-487, 1983.

19. KNAPP, G., **Decomposition of organic materials: fundamentals**, Piracicaba: II Workshop on Sample Decomposition, 1998. 30 p.

20. DJUDZMAN, R.; VAN DEN EECKHOUT, E.; MOERLOOSE, P. Determination of bismuth by atomic-absorption spectrophotometry with electrothermal atomisation after low-temperature ashing. **Analyst**, 102, 688-691, 1977.

21. CARTER, G. F.; YEOMAN, W. B. Communications. Determination of cadmium in blood after destruction of organic material by low-temperature ashing. **Analyst**, 105, 295-297, 1980.

22. WILLIAMS, E. V. Low-temperature oxygen-fluorine radiofrequency ashing of biological materials in poly(tetrafluoroethylene) dishes prior to the determination of tin, iron, lead and chromium by atomic-absorption spectroscopy. **Analyst**, 107, 1006-1013, 1982.

23. VOGT, C. Speciation of the inorganic components in brown coal. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 350, 89-92, 1994.

24. GILLAIN, G. Studies of pretreatments in the determination of Zn, Cd, Pb, Cu, Sb and Bi in suspended particulate matter and plankton by differential-pulse anodic-stripping voltammetry with a hanging mercury drop electrode. **Talanta**, 29, 651-654, 1982.

25. WALSH, P. R.; FASCHING, J. L.; DUCE, R. A. Losses of arsenic during the low temperature ashing of atmospheric particulate samples. **Analytical Chemistry**, 48, 1012-1014, 1976.

26. MULFORD, C. E. Low-temperature ashing for the determination of volatile metals by atomic absorption spectroscopy. **Atomic Absorption Newsletter**, 5, 135-139, 1966.

27. PILLAY, K. K. S.; THOMAS, C. C.; SONDEL, J. A.; HYCHE, C. M. Determination of mercury in biological and environmental samples by neutron activation analysis. **Analytical Chemistry**, 43, 1419-1425, 1971.

28. WHITE, R. T.; LAWRENCE, C. W. Low-temperature decomposition of botanical and biological samples for multielement analysis by high-frequency induced oxygen-argon-fluorine plasma. **Journal of Association of Official Anaytical Chemists**, 78, 99-109, 1995.

29. VALENTA, P.; RÜTZEL, H.; NÜRNBERG, H. W.; STOEPPLER, M. Trace chemistry of toxic metals in biomatrices. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie**, 285, 25-34, 1977.

30. NARASAKI, H. Determination of cadmium in polished rice by low-temperature ashing and atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 104, 393-395, 1979.

31. MAIR, J. W.; DAY, H. G. Curcumin method for spectrophotometric determination of boron extracted from radio frequency ashed animal tissues using 2-ethyl-1,3-hexanediol. **Analytical Chemistry**, 44, 2015-2017, 1972.

32. DAUGHTREY, E. H.; HARRISON, W. W. Analysis for trace levels of boron by ion exchange-hollow cathode emission. **Analytica Chimica Acta**, 72, 225-230, 1974.

33. COOMBER, R.; WEBB, J. R. Comparison of low temperature radiofrequency ashing with other methods of organic sample oxidation for the determination of sodium in an acrylic fibre. **Analyst**, 95, 668-669, 1970.

34. HAUSER, T. R.; HINNERS, T. A.; KENT, J. L. Atomic absorption determination of cadmium and lead in whole blood by a reagent-free method. **Analytical Chemistry**, 44, 1819-1821, 1972.

35. NADKARNI, R. A. Multitechnique multielemental analysis of coal and fly ash. **Analytical Chemistry**, 52, 929-935, 1980.

36. KNAPP, G.; RAPTIS, S. E.; KAISER, G.; TÖLG, G.; SCHRAMEL, P.; SCHREIBER, B. A partially mechanized system for the combustion of organic samples in a stream of oxygen with quantitative recovery of the trace elements. **Fresenius Zeitschrift für analytische Chemie**, 308, 97-103, 1981.

37. HAN, H.-B.; KAISER, G.; TÖLG, G. Decomposition of biological materials, rocks, and soils in pure oxygen under dynamic conditions for the determination of selenium at trace levels. **Analytica Chimica Acta**, 128, 9-21, 1981.

38. RAPTIS, S. E.; WEGSCHEIDER, W.; KNAPP, G.; TOELG, G. X-ray fluorescence determination of trace selenium in organic and biological matrices. **Analytical Chemistry**, 52, 1292-1296, 1980.

39. GÉLINAS, Y.; KRUSHEVSKA, A.; BARNES, R. M. Determination of Total Iodine in Nutritional and Biological Samples by ICP-MS Following Their Combustion within an Oxygen Stream. **Analytical Chemistry**, 70, 1021-1025, 1998.

40. WICKBOLD, R. Neue Schnellmethode zur Halogenbestimmung in organischen Substanzen. **Angewandte Chemie**, 64, 133-135, 1952.

41. ERBER, D.; QUICK, L.; ROTH, J.; CAMMANN, K. Investigation of sample decomposition for the trace determination of arsenic, antimony and selenium in organic and inorganic materials using the Wickbold combustion method. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 346, 420-425, 1993.

42. ERBER, D.; QUICK, L.; WINTER, F.; ROTH, J.; CAMMANN, K. The Wickbold combustion method for the determination of mercury under statistical aspects. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 349, 502-509, 1994.

43. HOPPSTOCK, K.; MICHULITZ, M. Voltammetric determination of trace platinum in gasoline after Wickbold combustion. **Analytica Chimica Acta**, 350, 135-140, 1997.

44. KULKE, M.; UMLAND, F. Improvement of Wickbold combustion apparatus for decomposition of petroleum-products and used lubricanting oils for trace analysis of inorganic components. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie**, 288, 273-276, 1977.

45. EHRENBERGER, F.; GORBACH, S.; HOMMEL, K. Schnellbestimmung von Halogen und Schwefel in organischen Substanzen mit einer modifizierten Wickbold-Apparatur. **Fresenius Zeitschrift für analytische Chemie**, 210, 349-354, 1965.

46. LIEDERMAN, D.; GLASS, J. R. A modified Wickbold combustion apparatus for the determination of sulfur in liquid hydrocarbons. **Microchemical Journal**, 10, 211-217, 1966.

47. SWEETSER, P. B. Decomposition of Organic Fluorine Compounds by Wickbold Oxyhydrogen Flame Combustion Method. **Analytical Chemistry**, 28, 1766-1768, 1956.

48. ROWE, R. D. Wickbold Combustion and Spectrophotometric Analysis Procedure for Trace Amounts of Organic Chlorine in Viscous Polybutene Polymers. **Analytical Chemistry**, 37, 368-370, 1965.

49. GOUVERNEUR, P.; SNOEK, O. I.; HEERINGA-KOMMER, M. Nitrogen determination in mineral oils by means of wickbold oxyhydrogen combustion. **Analytica Chimica Acta**, 39, 413-422, 1967.

50. KNAUER, H. E.; MILLIMAN, G. E. Analysis of petroleum for trace metals. Determination of mercury in petroleum and petroleum products. **Analytical Chemistry**, 47, 1263-1268, 1975.

51. LABX CO. Heraeus Wickbold V5. Disponível em: http://www.labx.com/item/heraeus-wickbold-v5/LV34540601. Acessado em: 14 de junho de 2016.

52. LABEXCHANGE GMBH. Heraeus Wickbold V5. Disponível em: http://shop.labexchange.com/en/heraeus-wickbold-v5.html. Acessado em: 14 de junho de 2016.

53. KOEHLER INSTRUMENT GMBH. K47500 Wickbold Combustion Apparatus. Disponível em: http://www.koehlerinstrument.com/products /K47500.html. Acessado em: 14 de junho de 2016.

54. SCHÖNIGER, W. Eine mikroanalytische Schnellbestimmung von Halogen in organischen Substanzen. **Microchimica Acta**, 43, 123-129, 1955.

55. MIYAHARA, T.; OGAI, F.; KITAMURA, H.; NARITA, K.; TAKINO, Y.; TOYO; RSQUO; OKA, T. Determination of Fluorine in Organic Compounds by Potentiometric Titration with Aluminum Chloride Solution Combined with Oxygen Flask Combustion. **Analytical Sciences**, 14, 1145-1147, 1998.

56. MACDONALD, A. M. G. **The oxygen flask method**. In: Reilley, C. N., Ed., **Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation**, New York: John Wiley & Sons, 1965. p. 513.

57. HASSAN, H. N. A.; HASSOUNA, M. E. M.; GAWARGIOUS, Y. A. Spectrophotometric microdetermination of bismuth in organic compounds after oxygen-flask combustion. **Talanta**, 35, 311-313, 1988.

58. BISHARA, S. W.; GAWARGIOUS, Y. A.; FALTAOOS, B. N. Polarographic microdetermination of cobalt, nickel, and antimony in organic compounds. **Analytical Chemistry**, 46, 1103-1105, 1974.

59. FORBES, S.; BOUND, G. P.; WEST, T. S. Determination of selenium in soils and plants by differential pulse cathodic-stripping voltammetry. **Talanta**, 26, 473-477, 1979.

60. TUCKERMAN, M. M.; HODECKER, J. H.; SOUTHWORTH, B. C.; FLEISCHER, K. D. Determination of arsenic in organic compounds rapid micro and semimicro methods. **Analytica Chimica Acta**, 21, 463-467, 1959.

61. GAWARGIOUS, Y. A.; BOULOS, L. S.; FALTAOOS, B. N. New iodometric methods for the microdetermination of arsenic in organic compounds. **Talanta**, 23, 513-516, 1976.

62. URE, A. M.; SHAND, C. A. The determination of mercury in soils and related materials by cold-vapour atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 72, 63-77, 1974.

63. BELCHER, R.; CAMPBELL, A. D.; GOUVERNEUR, P.; MACDONALD, A. M. G. 585. Submicro-methods of organic analysis. Part XV. Determination of sulphur by the oxygen-flask method. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, 3033-3037, 1962.

64. GEDANSKY, S. J.; BOWEN, J. E.; MILNER, O. I. Rapid Combustion Method for Determination of Phosphorus in Petroleum Products. **Analytical Chemistry**, 32, 1447-1449, 1960.

65. LIGHT, T. S.; MANNION, R. F. Microdetermination of fluorine in organic compounds by potentiometric titration using a fluoride electrode. **Analytical Chemistry**, 41, 107-111, 1969.

66. DOBBS, H. E. Oxygen Flask Method for the Assay of Tritium-,Carbon-14-, and Sulfur-35-Labeled Compounds. **Analytical Chemistry**, 35, 783-786, 1963.

67. DOBBS, H. E. Determination of Carbon-14 in Halogenic Compounds by an Oxygen Flask Method. **Analytical Chemistry**, 36, 687-689, 1964.

68. ROGERS, R. N.; YASUDA, S. K. Rapid Microdetermination of Fluorine in Organic Compounds. **Analytical Chemistry**, 31, 616-617, 1959.

69. WANG, C. Y.; ZHOU, Y. M.; YANG, W. Z. Fluoride Electrode-Coupled Minicomputer for Determination of Fluoride in Human Hair. **Microchemical Journal**, 51, 374-378, 1995.

70. ALLAWAY, W. H.; CARY, E. E. Determination of Submicrogram Amounts of Selenium in Biological Materials. **Analytical Chemistry**, 36, 1359-1362, 1964.

71. GUNTENMANN, W. H.; LISK, D. J. Fungicide Residues, Rapid Determination of Mercury in Apples by Modified Schoniger Combustion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 8, 306-308, 1960.

72. LISK, D. J. Pesticide Residues, Rapid Combustion and Determination of Residues of Chlorinated Pesticides Using a Modified Schoniger Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 8, 119-121, 1960.

73. GAWARGIOUS, Y. A.; BESADA, A.; FALTAOOS, B. N. Indirect polarographic microdetermination of fluorine in fluoroorganic compounds after oxygen-flask combustion. **Analytical Chemistry**, 47, 502-505, 1975.

74. JOHNSON, C. A.; VICKERS, C. The flask combustion technique in pharmaceutical analysis: iodine-containing substances. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 11, 218T-222TT, 1959.

75. OSBORNE, B. G.; WILLIS, K. H. Determination of low levels of chlorine in adipose tissue by means of the oxygen-flask combustion technique and gas-liquid chromatography. **Analyst**, 110, 1037-1038, 1985.

76. MCGARY, E. D. Quantitative semiautomated colorimetric determination of thyroid (iodine) in thyroid tablets. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 69, 948-951, 1980.

77. BARNEY, J. E.; BERGMANN, J. G.; TUSKAN, W. G. Rapid Determination of Phosphorus in Motor Oils and Additives. **Analytical Chemistry**, 31, 1394-1396, 1959.

78. FUKASAWA, T.; YAMANE, T. Determination of trace vanadium in petroleum oils by oxygen flask combustion and a catalytic method. **Analytica Chimica Acta**, 113, 123-130, 1980.

79. KRUG, F. J., **Determinação de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica**, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba: Universidade de São Paulo, 1975. 150 p.

80. GENG, W.; NAKAJIMA, T.; TAKANASHI, H.; OHKI, A. Determination of total fluorine in coal by use of oxygen flask combustion method with catalyst. **Fuel**, 86, 715-721, 2007.

81. GENG, W.; NAKAJIMA, T.; TAKANASHI, H.; OHKI, A. Utilization of oxygen flask combustion method for the determination of mercury and sulfur in coal. **Fuel**, 87, 559-564, 2008.

82. GUSTAFSSON, L.; NJENGA, L. W. Determination of total fluorine in vegetables and plants by open-flame ashing and microdiffusion. **Analytica Chimica Acta**, 212, 133-143, 1988.

83. TONIOLO, R.; BONTEMPELLI, G.; ZANCATO, M.; PIETROGRANDE, A. Simultaneous microdetermination of chlorine, bromine and phosphorus in organic compounds by ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, 662, 185-190, 1994.

84. AL-ABACHI, M. Q.; SALIH, E. S. Indirect spectrophotometric method for the microdetermination of chlorine or bromine in organic compounds using 1,5-diphenyl carbazide. **Analyst**, 112, 485-488, 1987.

85. BURNS, D. T.; MAITIN, B. K. Improvements to the oxygen flask combustion procedure for assay of halogenated organic compounds. **Analyst**, 108, 452-456, 1983.

86. QUINN, A. M.; SIU, K. W. M.; GARDNER, G. J.; BERMAN, S. S. Determination of heteroatoms in organic compounds by ion chromatography after Schöniger flask decomposition. **Journal of Chromatography A**, 370, 203-205, 1986.

87. YANG, S.; FU, S.; WANG, M. Determination of trace iodine in food and biological samples by cathodic stripping voltammetry. **Analytical Chemistry**, 63, 2970-2973, 1991.

88. PIETROGRANDE, A.; ZANCATO, M. Sequential potentiometric microdetermination of chloride and phosphate and its application to the determination of phosphorus and chlorine in organic compounds. **Talanta**, 35, 664-666, 1988.

89. CAMPIGLIO, A. Potentiometric Microdetermination of Tungsten in Organic Compounds after Combustion in a Modified Oxygen Flask. **Microchemical Journal**, 55, 375-381, 1997.

90. BELCHER, R.; LEONARD, M. A.; WEST, T. S. 717. Submicro-methods for the analysis of organic compounds. Part X. Determination of fluorine. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, 3577-3579, 1959.

91. MAZANEK, V.; JANKOVSKY, O.; LUXA, J.; SEDMIDUBSKY, D.; JANOUSEK, Z.; SEMBERA, F.; MIKULICS, M.; SOFER, Z. Tuning of fluorine content in graphene: towards large-scale production of stoichiometric fluorographene. **Nanoscale**, 7, 13646-13655, 2015.

92. JANKOVSKY, O.; SIMEK, P.; SEDMIDUBSKY, D.; MATEJKOVA, S.; JANOUSEK, Z.; SEMBERA, F.; PUMERA, M.; SOFER, Z. Water-soluble highly fluorinated graphite oxide. **RSC Advances**, 4, 1378-1387, 2014.

93. XIE, X.; TAN, H.; LI, J.; ZHONG, Y. Synthesis and characterization of fluorocarbon chain end-capped poly(carbonate urethane)s as biomaterials: A novel bilayered surface structure. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, 84A, 30-43, 2008.

94. YU, M.; ZHANG, B. W.; DENG, B.; LI, L. F.; XIE, L. D.; LU, X. F.; SHENG, K. L.; LI, J. Y. Introducing reactive groups into polymer chains by radiation induced grafting technique. **Plastics, Rubber & Composites**, 39, 79-82, 2010.

95. XU, W.; SU, S.; JIANG, P.; WANG, H.; DONG, X.; ZHANG, M. Determination of sulfonamides in bovine milk with column-switching high performance liquid chromatography using surface imprinted silica with hydrophilic external layer as restricted access and selective extraction material. **Journal of Chromatography A**, 1217, 7198-7207, 2010.

96. HASSAN, S. S. M. Iodometric microdetermination of chlorine and bromine in some highly halogenated organic compounds. **Fresenius Zeitschrift für analytische Chemie**, 257, 345-346, 1971.

97. KANG, Z.-Z.; ZHANG, B.; JIAO, Y.-C.; XU, Y.-H.; HE, Q.-Z.; LIANG, J. High-efficacy antimicrobial cellulose grafted by a novel quaternarized N-halamine. **Cellulose**, 20, 885-893, 2013.

98. BEHERA, A. K.; ADHIKARI, B.; KAR, P. Synthesis of processable conducting poly(m-aminophenol) having structure like keto derivative of polyaniline. **Polymer Science Series B**, 57, 159-166, 2015.

99. JERMAKOWICZ-BARTKOWIAK, D.; CYGANOWSKI, P. Effect of Microwave Radiation on the Synthesis of Ion Exchange Resins: A Comparative Study. **Solvent Extraction and Ion Exchange**, 33, 510-521, 2015.

100. RUBINO, S.; PIBIRI, I.; COSTANTINO, C.; BUSCEMI, S.; GIRASOLO, M. A.; ATTANZIO, A.; TESORIERE, L. Synthesis of platinum complexes with 2-(5-perfluoroalkyl-1,2,4-oxadiazol-3yl)-pyridine and 2-(3-perfluoroalkyl-1-methyl-1,2,4-triazole-5yl)-pyridine ligands and their in vitro antitumor activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 155, 92-100, 2016.

101. SCHOTTENHEIM, J.; GERNERT, C.; HERZIGKEIT, B.; KRAHMER, J.; TUCZEK, F. Catalytic Models of Tyrosinase: Reactivity Differences between Systems Based on Mono- and Binucleating Ligands. **European Journal of Inorganic Chemistry**, 2015, 3501-3511, 2015.

102. SHUL'GA, Y. M.; MARTYNENKO, V. M.; SHESTAKOV, A. F.; BASKAKOV, S. A.; KULIKOV, S. V.; VASILETS, V. N.; MAKAROVA, T. L.; MOROZOV, Y. G. Doping of fullerite with molecular oxygen at low temperature and pressure. **Russian Chemical Bulletin**, 55, 687-696, 2006.

103. MA, W.; HOFFMANN, G.; SCHIRMER, M.; CHEN, G.; ROTTER, V. S. Chlorine characterization and thermal behavior in MSW and RDF. **Journal of Hazardous Materials**, 178, 489-498, 2010.

104. KRETZSCHMANN, F.; ENGST, R. Micro-determination of bromide residues in food following treatment with gaseous methyl bromide. **Microchimica Acta**, 58, 270-278, 1970.

105. LIN, C.-Z.; GUAN, H.-S.; LI, H.-H.; YU, G.-L.; GU, C.-X.; LI, G.-Q. The influence of molecular mass of sulfated propylene glycol ester of low-molecular-weight alginate on anticoagulant activities. **European Polymer Journal**, 43, 3009-3015, 2007.

106. XIN, M.; REN, L.; SUN, Y.; LI, H.-h.; GUAN, H.-S.; HE, X.-X.; LI, C.-X. Anticoagulant and antithrombotic activities of low-molecular-weight propylene glycol alginate sodium sulfate (PSS). **European Journal of Medicinal Chemistry**, 114, 33-40, 2016.

107. FUKUSHIMA, M.; YAMAMOTO, M.; KOMAI, T.; YAMAMOTO, K. Studies of structural alterations of humic acids from conifer bark residue during composting by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry using tetramethylammonium hydroxide (TMAH-py-GC/MS). **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, 86, 200-206, 2009.

108. GRANADOS, M. L.; ALBA-RUBIO, A. C.; SADABA, I.; MARISCAL, R.; MATEOS-APARICIO, I.; HERAS, A. Poly(styrenesulphonic) acid: an active and reusable acid catalyst soluble in polar solvents. **Green Chemistry**, 13, 3203-3212, 2011.

109. DICHARRY, R. M.; YE, P.; SAHA, G.; WAXMAN, E.; ASANDEI, A. D.; PARNAS, R. S. Wheat Gluten–Thiolated Poly(vinyl alcohol) Blends with Improved Mechanical Properties. **Biomacromolecules**, 7, 2837-2844, 2006.

110. IAKOVLEV, M.; VAN HEININGEN, A. Efficient Fractionation of Spruce by SO2-Ethanol-Water Treatment: Closed Mass Balances for Carbohydrates and Sulfur. **ChemSusChem**, 5, 1625-1637, 2012.

111. MASSON, M. R. Microdetermination of selenium, tellurium, and arsenic in organic compounds. **Microchimica Acta**, 65, 399-411, 1976.

112. LEISURE, O. W.; OLSON, O. E. Use of the AOAC fluorometric method for selenium in plants for the analysis of papers and tobaccos. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, 57, 658-661, 1974.

113. MARANESCU, B.; VISA, A.; ILIA, G. The Influence of pH on the Properties of Cobalt Styrylphosphonate. **Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements**, 189, 1004-1012, 2014.

114. BULATOV, A. V.; GOLOVKINA, A. B.; BALOVA, I. A.; SHISHOV, A. Y.; DOMOSTROEVA, N. G.; MOSKVIN, A. L.; MOSKVIN, L. N. Stepwise injection photometric determination of phosphorus in light oil products. **Journal of Analytical Chemistry**, 66, 946-950, 2011.

115. CHEN, H.-B.; CHEN, L.; DONG, X.; LI, L.-J.; WANG, Y.-Z. Block phosphorus-containing poly(trimethylene terephthalate) copolyester via solid-state polymerization: Reaction kinetics and sequential distribution. **Polymer**, 53, 3520-3528, 2012.

116. LI, L.-J.; DUAN, R.-T.; ZHANG, J.-B.; WANG, X.-L.; CHEN, L.; WANG, Y.-Z. Phosphorus-Containing Poly(ethylene terephthalate): Solid-State Polymerization and Its Sequential Distribution. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 52, 5326-5333, 2013.

117. YANG, J.-C.; CAO, Z.-J.; WANG, Y.-Z.; SCHIRALDI, D. A. Ammonium polyphosphate-based nanocoating for melamine foam towards high flame retardancy and anti-shrinkage in fire. **Polymer**, 66, 86-93, 2015.

118. BELLO, E. I.; DANIEL, F. Optimization of Groundnut Oil Biodiesel Production and Characterization. **Applied Science Reports**, 9, 172-180, 2015.

119. CORNER, M. Rapid micro-determination of organically bound halogens, arsenic, phosphorus and boron. **Analyst**, 84, 41-46, 1959.

120. BELCHER, R.; MACDONALD, A. M. G.; WEST, T. S. The determination of metals in organic compounds by the closed flask method. **Talanta**, 1, 408-410, 1958.

121. WHITE, M. N.; LISK, D. J. Note on the determination of mercury in soil by oxygen flask combustion. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, 53, 530-537, 1970.

122. EBIHARA, N.; SAKURAI, H.; FUJINAMI, M.; OGUMA, K.; UCHIDA, T. Oxygen-flask Combustion with Light Beam Ignition. **Analytical Sciences**, 24, 283-287, 2008.

123. SAKLA, A. B.; ABO-TALEB, S. A. Microdetermination of metals in organometallic compounds by the oxine method after oxygen flask combustion. **Microchemical Journal**, 18, 502-508, 1973.

124. United States Pharmacopeia. Oxygen Flask Combustion. Disponível em: http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c471.html. Acessado em: 14 de junho de 2016.

125. Agência Nacional da Vigilância Sanitária - ANVISA. Método 5.3.3.3. **Farmacopeia Brasileira**, Brasília 2010.

126. THOMAS SCIENTIFIC CO. Thomas-Schoniger Combustion Flasks. Disponível em: http://www.thomassci.com/Laboratory-Supplies/Combustion-Flasks/_/THOMAS-COMBUSTION-FLASKS. Acessado em: 14 de junho de 2016.

127. HEMPEL, W. Über eine Methode der Schwefelbestimmung in Kohlen und organischen Körpern. **Angewandte Chemie**, 5, 393-394, 1892.

128. CORTÉS-PEÑA, M. A.; PÉREZ-ARRIBAS, L. V.; LEÓN-GONZÁLEZ, M. E.; POLO-DÍEZ, L. M. Determination of chlorine and bromine in automotive shredder residues by oxygen bomb and ion chromatography. **Waste Management & Research**, 20, 302-307, 2002.

129. SOUZA, G. B.; CARRILHO, E. N. V. M.; OLIVEIRA, C. V.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Oxygen bomb combustion of biological samples for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 57, 2195-2201, 2002.

130. NARASAKI, H. Determination of arsenic and selenium in fat materials and petroleum products by oxygen bomb combustion and automated atomic absorption spectrometry with hydride generation. **Analytical Chemistry**, 57, 2481-2486, 1985.

131. FUNG, Y. S.; DAO, K. L. Elemental analysis of chemical wastes by oxygen bomb combustion-ion chromatography. **Analytica Chimica Acta**, 334, 51-56, 1996.

132. NADKARNI, R. A.; POND, D. M. Application of ion chromatography for determination of selected elements in coal and oil shale. **Analytica Chimica Acta**, 146, 261-266, 1983.

133. BELEVI, H.; MÖNCH, H. Simultaneous determination of fluorine, chlorine and sulfur in incinerator residues by oxidative high pressure digestion and ion chromatography. **Analusis**, 28, 988-994, 2000.

134. LAMBERT, D. F.; TUROCZY, N. J. Comparison of digestion methods for the determination of selenium in fish tissue by cathodic stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, 408, 97-102, 2000.

135. HOLCOMBE, L. J.; EYNON, B. P.; SWITZER, P. Variability of elemental concentrations in power plant ash. **Environmental Science & Technology**, 19, 615-620, 1985.

136. FUNG, Y. S.; DAO, K. L. Oxygen bomb combustion ion chromatography for elemental analysis of heteroatoms in fuel and wastes development. **Analytica Chimica Acta**, 315, 347-355, 1995.

137. FUJIWARA, S.; NARASAKI, H. Determination of trace elements in organic material by the oxygen bomb method. **Analytical Chemistry**, 40, 2031-2033, 1968.

138. HICKS, J. E.; FLEENOR, J. E.; SMITH, H. R. The rapid determination of sulfur in coal. **Analytica Chimica Acta**, 68, 480-483, 1974.

139. R.J. CARTER; RAJENDRAM, V. S. The use of an oxygen bomb as an alternative method for digestion of fish tissue for total mercury analysis. 125, 33-38, 1992.

140. ANDUZE, R. A. Colorimetric Determination of Titanium in Polyethylene. **Analytical Chemistry**, 29, 90-91, 1957.

141. FABBRI, D.; LOCATELLI, C.; TARABUSI, S. A new procedure, based on combustion to sulphate and ion chromatography for the analysis of elemental sulphur in sediments. **Chromatographia**, 53, 119-121, 2000.

142. DOOLAN, K. J. A pyrohydrolytic method for the determination of low fluorine concentrations in coal and minerals. **Analytica Chimica Acta**, 202, 61-73, 1987.

143. BRETTHAUER, E. W.; MOGHISSI, A. A.; SNYDER, S. S.; MATHEWS, N. W. Determination of submicrogram amounts of mercury by the oxygen bomb combustion method. **Analytical Chemistry**, 46, 445-446, 1974.

144. FUJITA, M.; TAKEDA, Y.; TERAO, T.; HOSHINO, O.; UKITA, T. Microdetermination of mercury by the oxygen bomb combustion method. **Analytical Chemistry**, 40, 2042-2043, 1968.

145. LAWRENCE, P. Macro-determination of carbon in agricultural materials by oxygen-bomb combustion and titrimetry. **Analyst**, 105, 922-924, 1980.

146. CHIMPALEE, N.; CHIMPALEE, D.; SUPARUKNARI, S.; BOONYANITCHAYAKUL, B.; BURNS, D. T. Flow-injection spectrofluorimetric determination of sulphate using calcein and zirconium. **Analytica Chimica Acta**, 298, 401-404, 1994.

147. THOMAS, J.; GLUSKOTER, H. J. Determination of fluoride in coal with the fluoride ion-selective electrode. **Analytical Chemistry**, 46, 1321-1323, 1974.

148. POTTER, T. L. Determination of total organic chloride in solid waste. **Analytical Chemistry**, 56, 2987-2988, 1984.

149. WATANABE, N.; ITO, H. Analysis of waste for combustion: the case of Osaka City, Japan. **Resources, Conservation and Recycling**, 20, 57-69, 1997.

150. NOVIC̆ , M.; DOVZ̆ AN, A.; PIHLAR, B.; HUDNIK, V. Determination of chlorine, sulphur and phosphorus in organic materials by ion chromatography using electrodialysis sample pretreatment. **Journal of Chromatography A**, 704, 530-534, 1995.

151. EPA - Method 5050. **United States Environmental Protection Agency** Washington DC, 2015.

152. PARR INSTRUMENTS CO. Model 1108 Oxygen Combustion Vessel. Disponível em: http://www.parrinst.com/products/sample-preparation/oxygen-combustion-bombs/oxygen-combustion-bomb-model-1108/. Acessado em: 14 de junho de 2016.

153. ARIKAWA, Y.; SASAKI, A. Extraction and Isotope Measurement of Sulfur in Biological Samples. **Analytical Sciences**, 3, 157-160, 1987.

154. ZHANG, S.; ZHAO, T.; WANG, J.; QU, X.; CHEN, W.; HAN, Y. Determination of fluorine, chlorine and bromine in household products by means of oxygen bomb combustion and ion chromatography. **Journal of Chromatographic Science**, bms108, 2012.

155. DIAS, V. M. d. C.; SATTE, M. S. S. Determinação de As em amostras orgânicas de interesse ambiental por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica após combustão em bomba de O2. **Química Nova**, 26, 661-664, 2003.

156. ODA, S.; ARIKAWA, Y. Determination of Tellurium in Coal Samples by Means of Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry after Coprecipitation with Iron(III) Hydroxide. **Bunseki Kagaku**, 54, 1033-1037, 2005.

157. LI, D. Method for the determination of arsenic in coal by ICP-AES with oxygen bomb pre-treatment,. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, 23, 979–981, 2003.

158. LINDAHL, P. C.; BISHOP, A. M. Determination of trace elements in coal by an oxygen bomb combustion/atomic absorption spectrophotometric method. **Fuel**, 61, 658-662, 1982.

159. MARTINEZ-TARAZONA, R.; CARDIN, J. M. The indirect determination of chlorine in coal by atomic absorption spectrophotometry. **Fuel**, 65, 1705-1708, 1986.

160. FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; PEREIRA, J. S.; MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; KNAPP, G. Determination of halogens in coal after digestion using the microwave-induced combustion technique. **Analytical chemistry**, 80, 1865-1870, 2008.

161. MILLS, J. C. An acid dissolution procedure for the determination of boron in coal ash and silicates by inductively-coupled plasma emission spectrometry with conventional glass nebulizers. **Analytica Chimica Acta**, 183, 231-238, 1986.

162. REAGEN, W. K.; LINDSTROM, K. R.; THOMPSON, K. L.; FLAHERTY, J. M. Analytical techniques and method validation for the measurement of selected semivolatile and nonvolatile organofluorochemicals in air. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, 1, 559-569, 2004.

163. GRINBERG, P.; STURGEON, R. E. Ultra-trace determination of iodine in sediments and biological material using UV photochemical generation-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 64, 235-241, 2009.

164. DUCA, D.; TOSCANO, G.; PIZZI, A.; ROSSINI, G.; FABRIZI, S.; LUCESOLI, G.; SERVILI, A.; MANCINI, V.; ROMANAZZI, G.; MENGARELLI, C. Evaluation of the characteristics of vineyard pruning residues for energy applications: effect of different copper-based treatments. **Journal of Agricultural Engineering**, 47, 22-27, 2016.

165. ULRICH, A.; BARRELET, T.; FIGI, R.; RENNENBERG, H.; KRÄHENBÜHL, U. Time resolved sulphur and nutrient distribution in Norway spruce drill cores using ICP-OES. **Microchimica Acta**, 165, 79-89, 2009.

166. ABRAHAM, V.; DEMAN, J. M. Determination of total sulfur in canola oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 64, 384-387, 1987.

167. LIU, M. G.; SIH, N. J.; HU, X. M.; LI, Y. Q.; WANG, D. D. Determination of sulfur in diesel oil certified reference materials by oxygen-bombcombustion ICP-OES. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, 23, 965–967, 2003.

168. CORTES-PENA, M. A.; PEREZ-ARRIBAS, L. V.; LEON-GONZALEZ, M. E.; POLO-DIEZ, L. M. Determination of chlorine and bromine in automotive shredder residues by oxygen bomb and ion chromatography. **Waste Management & Research: the Journal of the International Solid Wastes and Public Cleansing Association, ISWA**, 20, 302-307, 2002.

169. TAKEDA, K.; ARIKAWA, Y. Determination of Rare Earth Elements in Petroleum by ICP-MS. **Bunseki Kagaku**, 54, 939-943, 2005.

170. DIMITRAKAKIS, E.; JANZ, A.; BILITEWSKI, B.; GIDARAKOS, E. Determination of heavy metals and halogens in plastics from electric and electronic waste. **Waste Management**, 29, 2700-2706, 2009.

171. WATANABE, N.; TANIKAWA, N.; OIKAWA, T.; INOUE, S.; FUKUYAMA, J. Improved quartz furnace method for chlorine and sulfur determination in municipal solid waste. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, 5, 0069-0076, 2003.

172. CARTER, R. J.; RAJENDRAM, V. S. Trace Metals in the Aquatic Environment The use of an oxygen bomb as an alternative method for digestion of fish tissue for total mercury analysis. **Science of the Total Environment**, 125, 33-38, 1992.

173. BERGER, M.; ZOU, L.; SCHLEICHER, R. Analysis of sulfur in the Copper Basin and Muddy River sites. **International Journal of Soil, Sediment and Water**, 2, 1, 2009.

174. BARIN, J. S., **Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas**, Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2003. 97 p.

175. FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; PANIZ, J. N. G.; MEDEIROS, J. A.; KNAPP, G. Microwave-Assisted Sample Combustion: A Technique for Sample Preparation in Trace Element Determination. **Analytical Chemistry**, 76, 3525-3529, 2004.

176. FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; PANIZ, J. N. G.; MEDEIROS, J. A.; KNAPP, G., **Verfahren und Vorrichtung zum Verbrennen von Proben in einer sauerstoffhaltigen Atmosphäre**, Germany, 2003.

177. MESKO, F. M., **Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por micro-ondas**, Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2008. 128 p.

178. PEREIRA, L. S. F.; BIZZI, C. A.; SCHMIDT, L.; MESKO, M. F.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. Evaluation of nitrates as igniters for microwave-induced combustion: understanding the mechanism of ignition. **RSC Advances**, 5, 9532-9538, 2015.

179. MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Digestion of biological materials using the microwave-assisted sample combustion technique. **Microchemical Journal**, 82, 183-188, 2006.

180. BARIN, J. S., **Desenvolvimento de procedimentos alternativos para a determinação de metais pesados em fármacos tricíclicos**, Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. 112 p.

181. MORAES, D. P.; MESKO, M. F.; MELLO, P. A.; PANIZ, J. N. G.; DRESSLER, V. L.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Application of microwave induced combustion in closed vessels for carbon black-containing elastomers decomposition. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 62, 1065-1071, 2007.

182. CHRISTOPHER, S. J.; VETTER, T. W. Application of Microwave-Induced Combustion and Isotope Dilution Strategies for Quantification of Sulfur in Coals via Sector-Field Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, 88, 4635-4643, 2016.

183. PEREIRA, J. S. F., **Determinação de cloreto por cromatografia de íons em petróleo extrapesado, coque e resíduo de vácuo após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas**, Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. 130 p.

184. MELLO, P. A., **Determinação de enxofre em petróleo pesado resíduo de vácuo e coque por ICP OES após combustão iniciada por micro-ondas em sistema fechado**, Santa Maria Universidade Federal de Santa Maria, 2007. 110 p.

185. PEREIRA, J. S. F.; MOREIRA, C. M.; ALBERS, C. N.; JACOBSEN, O. S.; FLORES, E. M. M. Determination of total organic halogen (TOX) in humic acids after microwave-induced combustion. **Chemosphere**, 83, 281-286, 2011.

186. MESKO, M. F.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; COSTA, V. C.; PIRES, N. R. X.; PEREIRA, C. M. P.; PICOLOTO, R. S.; MELLO, P. A. Determinação de bromo e iodo em alga marinha comestível por ICP-MS após decomposição por combustão iniciada por micro-ondas. **Química Nova**, 37, 964-968, 2014.

187. MESKO, M. F.; MELLO, P. A.; BIZZI, C. A.; DRESSLER, V. L.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Iodine determination in food by inductively coupled plasma mass spectrometry after digestion by microwave-induced combustion. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 398, 1125-1131, 2010.

188. HARTWIG, C. A.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; HERMES MULLER, A. L.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. Determination of bromine and iodine in shrimp and its parts by ICP-MS after decomposition using microwave-induced combustion. **Analytical Methods**, 6, 7540-7546, 2014.

189. MESKO, M. F.; TORALLES, I. G.; HARTWIG, C. A.; COELHO, G. S.; MULLER, A. L. H.; BIZZI, C. A.; MELLO, P. A. Bromine and Iodine Contents in Raw and Cooked Shrimp and Its Parts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 64, 1817-1822, 2016.

190. ANTES, F. G.; DUARTE, F. A.; MESKO, M. F.; NUNES, M. A. G.; PEREIRA, V. A.; MÜLLER, E. I.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Determination of toxic elements in coal by ICP-MS after digestion using microwave-induced combustion. **Talanta**, 83, 364-369, 2010.

191. DONATI, G. L.; ROSINI, F.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Focused-microwave-induced combustion: investigation of KClO3 thermal decomposition as O2 source. **Analytical Methods**, 3, 1688-1691, 2011.

192. PEREIRA, J. S. F.; DIEHL, L. O.; DUARTE, F. A.; SANTOS, M. F. P.; GUIMARÃES, R. C. L.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Chloride determination by ion chromatography in petroleum coke after digestion by microwave-induced combustion. **Journal of Chromatography A**, 1213, 249-252, 2008.

193. SANTOS, F. G.; PEREIRA, A. C.; CRUZ, S. M.; BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; REIS, B. F. Development of a multicommuted flow analysis procedure for simultaneous determination of sulfate and chloride in petroleum coke employing a homemade syringe pump and a LED-based photometer. **Analytical Methods**, 7, 4769-4779, 2015.

194. BIZZI, C. A.; PANIZ, J. N. G.; RODRIGUES, L. F.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Solid sampling coupled to flame furnace atomic absorption spectrometry for Mn and Ni determination in petroleum coke. **Microchemical Journal**, 96, 64-70, 2010.

195. MELLO, P. A.; GIESBRECHT, C. K.; ALENCAR, M. S.; MOREIRA, E. M.; PANIZ, J. N. G.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Determination of Sulfur in Petroleum Coke Combining Closed Vessel Microwave-Induced Combustion and Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, 41, 1623-1632, 2008.

196. RODRIGUES, L. F.; MATTOS, J. C. P.; BOLZAN, R. C.; FLORES, E. M. M.; DUARTE, F. A. Determination of trace elements in raw material for polyurethane production using direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 324-331, 2014.

197. MACIEL, J. V.; KNORR, C. L.; FLORES, E. M. M.; MÜLLER, E. I.; MESKO, M. F.; PRIMEL, E. G.; DUARTE, F. A. Feasibility of microwave-induced combustion for trace element determination in Engraulis anchoita by ICP-MS. **Food Chemistry**, 145, 927-931, 2014.

198. VTORUSHINA, E. A.; SAPRYKIN, A. I.; KNAPP, G. Use of oxidation and reduction vapor generation for lowering the detection limits of iodine in biological samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**, 64, 129-135, 2009.

199. CRUZ, S. M.; SCHMIDT, L.; DALLA NORA, F. M.; PEDROTTI, M. F.; BIZZI, C. A.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. Microwave-induced combustion method for the determination of trace and ultratrace element impurities in graphite samples by ICP-OES and ICP-MS. **Microchemical Journal**, 123, 28-32, 2015.

200. ENDERS, M. S. P.; SOUZA, J. P.; BALESTRIN, P.; MELLO, P. A.; DUARTE, F. A.; MULLER, E. I. Microwave-induced combustion of high purity nuclear flexible graphite for the determination of potentially embrittling elements using atomic spectrometric techniques. **Microchemical Journal**, 124, 321-325, 2016.

201. NUNES, T. S.; MULLER, C. C.; BALESTRIN, P.; MULLER, A. L. H.; MESKO, M. F.; MELLO, P. A.; MULLER, E. I. Determination of chlorine and sulfur in high purity flexible graphite using ion chromatography (IC) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) after pyrohydrolysis sample preparation. **Analytical Methods**, 7, 2129-2134, 2015.

202. SUSSULINI, A.; GARCIA, S. J.; MESKO, F. M.; MORAES, D. P.; FLORES, E. M. M.; PÉREZ, A. C.; ARRUDA, Z. M. A. Evaluation of soybean seed protein extraction focusing on metalloprotein analysis. **Microchimica Acta**, 158, 173-180, 2007.

203. MULLER, A. L. H.; MELLO, P. A.; MESKO, M. F.; DUARTE, F. A.; DRESSLER, V. L.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Bromine and iodine determination in active pharmaceutical ingredients by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 27, 1889-1894, 2012.

204. BARIN, J. S.; TISCHER, B.; PICOLOTO, R. S.; ANTES, F. G.; SILVA, F. E. B.; PAULA, F. R.; FLORES, E. M. M. Determination of toxic elements in tricyclic active pharmaceutical ingredients by ICP-MS: a critical study of digestion methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 352-358, 2014.

205. PICOLOTO, R. S.; DONEDA, M.; FLORES, E. L. M.; MESKO, M. F.; FLORES, E. M. M.; MELLO, P. A. Simultaneous determination of bromine and iodine in milk powder for adult and infant nutrition by plasma based techniques after digestion using microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 107, 86-92, 2015.

206. COSTA, V. C.; PICOLOTO, R. S.; HARTWIG, C. A.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. Feasibility of ultra-trace determination of bromine and iodine in honey by ICP-MS using high sample mass in microwave-induced combustion. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 407, 7957-7964, 2015.

207. MELLO, P. A.; RODRIGUES, L. F.; NUNES, M. A. G.; MATTOS, J. C. P.; MÜLLER, E. I.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Determination of metal impurities in carbon nanotubes by direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 22, 1040-1049, 2011.

208. ANTES, F. G.; PEREIRA, J. S. F.; ENDERS, M. S. P.; MOREIRA, C. M. M.; MÜLLER, E. I.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L. Pyrohydrolysis of carbon nanotubes for Br and I determination by ICP-MS. **Microchemical Journal**, 101, 54-58, 2012.

209. PEREIRA, J. S. F.; ANTES, F. G.; DIEHL, L. O.; KNORR, C. L.; MORTARI, S. R.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Microwave-induced combustion of carbon nanotubes for further halogen determination. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 25, 1268-1274, 2010.

210. GRINBERG, P.; STURGEON, R. E.; DIEHL, L. O.; BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M. Comparison of sample digestion techniques for the determination of trace and residual catalyst metal content in single-wall carbon nanotubes by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 105, 89-94, 2015.

211. ANTES, F. G.; PEREIRA, J. S. F.; SPADOA, L. C.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L. Fluoride determination in carbon nanotubes by ion selective electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23, 1193-1198, 2012.

212. MORTARI, S. R.; COCCO, C. R.; BARTZ, F. R.; DRESSSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Fast Digestion Procedure for Determination of Catalyst Residues in La- and Ni-Based Carbon Nanotubes. **Analytical Chemistry**, 82, 4298-4303, 2010.

213. MULLER, A. L. H.; MULLER, C. C.; LYRA, F.; MELLO, P. A.; MESKO, M. F.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Determination of Toxic Elements in Nuts by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry after Microwave-Induced Combustion. **Food Analytical Methods**, 6, 258-264, 2013.

214. CRUZ, S. M.; TIRK, P.; DALLA NORA, F. M.; SCHMIDT, L.; WILTSCHE, H.; BIZZI, C. A.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Feasibility of sulfur determination in diesel oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion using flame retardant. **Fuel**, 160, 108-113, 2015.

215. PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; ANTES, F. G.; DIEHL, L. O.; SANTOS, M. F. P.; GUIMARÃES, R. C. L.; FONSECA, T. C. O.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after digestion by microwave-induced combustion. **Microchemical Journal**, 96, 4-11, 2010.

216. ORTEGA, G. S.; PÉCHEYRAN, C.; HUDIN, G.; MAROSITS, E.; DONARD, O. F. X. Different approaches of crude oil mineralisation for trace metal analysis by ICPMS. **Microchemical Journal**, 106, 250-254, 2013.

217. PEREIRA, J. S. F.; PEREIRA, L. S. F.; MELLO, P. A.; GUIMARÃES, R. C. L.; GUARNIERI, R. A.; FONSECA, T. C. O.; FLORES, E. M. M. Microwave-induced combustion of crude oil for further rare earth elements determination by USN–ICP-MS. **Analytica Chimica Acta**, 844, 8-14, 2014.

218. MORAES, D. P.; ANTES, F. G.; PEREIRA, J. S. F.; SANTOS, M. F. P.; GUIMARÃES, R. C. L.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; PANIZ, J. N. G.; FLORES, E. M. M. Microwave-Assisted Procedure for Salinity Evaluation of Heavy Crude Oil Emulsions. **Energy & Fuels**, 24, 2227-2232, 2010.

219. PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; MORAES, D. P.; DUARTE, F. A.; DRESSLER, V. L.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Chlorine and sulfur determination in extra-heavy crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 64, 554-558, 2009.

220. PEREIRA, L. S. F.; IOP, G. D.; FLORES, E. M. M.; BURROW, R. A.; MELLO, P. A.; DUARTE, F. A. Strategies for the determination of trace and toxic elements in pitch: Evaluation of combustion and wet digestion methods for sample preparation. **Fuel**, 163, 175-179, 2016.

221. PEREIRA, L. S. F.; FROHLICH, A. C.; DUARTE, F. A.; BURROW, R. A.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Determination of halogens and sulfur in pitch from crude oil by plasma-based techniques after microwave-induced combustion. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 1822-1827, 2015.

222. SUCMAN, E.; BEDNAR, J. Determination of fluoride in plant material using microwave induced oxygen combustion. **Czech Journal of Food Sciences**, 30, 438-441, 2012.

223. MORAES, D. P.; PEREIRA, J. S. F.; DIEHL, L. O.; MESKO, M. F.; DRESSLER, V. L.; PANIZ, J. N. G.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Evaluation of sample preparation methods for elastomer digestion for further halogens determination. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 397, 563-570, 2010.

224. PEREIRA, J. S. F.; KNORR, C. L.; PEREIRA, L. S. F.; MORAES, D. P.; PANIZ, J. N. G.; FLORES, E. M. M.; KNAPP, G. Evaluation of sample preparation methods for polymer digestion and trace elements determination by ICPMS and ICPOES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 26, 1849-1857, 2011.

225. PEREIRA, L. S. F.; PEDROTTI, M. F.; MICELI, T. M.; PEREIRA, J. S. F.; FLORES, E. M. M. Determination of elemental impurities in poly(vinyl chloride) by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, 152, 371-377, 2016.

226. FLORES, E. M. M.; MULLER, E. I.; DUARTE, F. A.; GRINBERG, P.; STURGEON, R. E. Determination of Trace Elements in Fluoropolymers after Microwave-Induced Combustion. **Analytical Chemistry**, 85, 374-380, 2013.

227. KRZYZANIAK, S. R.; SANTOS, R. F.; DALLA NORA, F. M.; CRUZ, S. M.; FLORES, E. M. M.; MELLO, P. A. Determination of halogens and sulfur in high-purity polyimide by IC after digestion by MIC. **Talanta**, 158, 193-197, 2016.

228. RANZ, A.; MAIER, E.; TRAMPITSCH, C.; LANKMAYR, E. Microwave-assisted extraction of decabromodiphenylether from polymers. **Talanta**, 76, 102-106, 2008.

229. NAM, K. H.; ISENSEE, R.; INFANTINO, G.; PUTYERA, K.; WANG, X. Microwave-induced combustion for ICP-MS: a generic approach to trace elemental analyses of pharmaceutical products. **Spectroscopy**, 26, 36-41, 2011.

230. KACZALA, S.; COSTA, A. B.; POSSELT, E. L.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L. Element Determination in Pharmaceuticals Using Direct Solid AnalysisElectrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 26, 475-483, 2015.

231. SILVA, S. V.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, E. M. M.; WAGNER, R.; RICHARDS, N. S. P. S.; BARIN, J. S. Evaluation of bromine and iodine content of milk whey proteins combining digestion by microwave-induced combustion and ICP-MS determination. **Food Chemistry**, 190, 364-367, 2016.

232. CRIZEL, M. G.; HARTWIG, C. A.; NOVO, D. L. R.; TORALLES, I. G.; SCHMIDT, L.; MULLER, E. I.; MESKO, M. F. A new method for chlorine determination in commercial pet food after decomposition by microwave-induced combustion. **Analytical Methods**, 7, 4315-4320, 2015.

233. MELLO, P. A.; DIEHL, L. O.; OLIVEIRA, J. S. S.; MULLER, E. I.; MESKO, M. F.; FLORES, E. M. M. Plasma-based determination of inorganic contaminants in waste of electric and electronic equipment after microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 105, 95-102, 2015.

234. PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; DUARTE, F. A.; SANTOS, M. F. P.; GUIMARÃES, R. C. L.; KNAPP, G.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Feasibility of Microwave-Induced Combustion for Digestion of Crude Oil Vacuum Distillation Residue for Chlorine Determination. **Energy & Fuels**, 23, 6015-6019, 2009.

235. PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; MULLER, E. I.; BARIN, J. S.; DIEHL, L. O.; MESKO, M. F.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Chlorine determination in crude oil fractions after digestion using microwave-induced combustion. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, 3, 119-123, 2011.

236. MELLO, P. A.; PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M.; KNAPP, G. Nickel, vanadium and sulfur determination by inductively coupled plasma optical emission spectrometry in crude oil distillation residues after microwave-induced combustion. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 24, 911-916, 2009.

237. MÜLLER, A. L. H.; PICOLOTO, R. S.; MELLO, P. A.; FERRÃO, M. F.; SANTOS, M. F. P.; GUIMARÃES, R. C. L.; MÜLLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Total sulfur determination in residues of crude oil distillation using FT-IR/ATR and variable selection methods. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 89, 82-87, 2012.

238. BARBOSA, J. T. P.; SANTOS, C. M. M.; DOS SANTOS BISPO, L.; LYRA, F. H.; DAVID, J. M.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M. Bromine, Chlorine, and Iodine Determination in Soybean and its Products by ICP-MS After Digestion Using Microwave-Induced Combustion. **Food Analytical Methods**, 6, 1065-1070, 2013.

239. PICOLOTO, R. S.; WILTSCHE, H.; KNAPP, G.; MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. Determination of inorganic pollutants in soil after volatilization using microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 86, 123-130, 2013.

240. ALBERS, C. N.; JACOBSEN, O. S.; FLORES, E. M. M.; PEREIRA, J. S. F.; LAIER, T. Spatial variation in natural formation of chloroform in the soils of four coniferous forests. **Biogeochemistry**, 103, 317-334, 2011.

241. PICOLOTO, R. S.; WILTSCHE, H.; KNAPP, G.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. Mercury determination in soil by CVG-ICP-MS after volatilization using microwave-induced combustion. **Analytical Methods**, 4, 630-636, 2012.

242. MÜLLER, A. L. H.; MÜLLER, C. C.; ANTES, F. G.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M.; MÜLLER, E. I. Determination of Bromide, Chloride, and Fluoride in Cigarette Tobacco by Ion Chromatography after Microwave-Induced Combustion. **Analytical Letters**, 45, 1004-1015, 2012.

243. MÜLLER, A. L. H.; BIZZI, C. A.; PEREIRA, J. S. F.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; FLORES, E. M. M.; MULLER, E. I. Bromine and chlorine determination in cigarette tobacco using microwave-induced combustion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 22, 1649-1655, 2011.

244. DUARTE, F. A.; PEREIRA, J. S. F.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M.; KNAPP, G. Seafood digestion by microwave-induced combustion for total arsenic determination by atomic spectrometry techniques with hydride generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 24, 224-227, 2009.

245. BARIN, J. S.; PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; KNORR, C. L.; MORAES, D. P.; MESKO, M. F.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M. Focused microwave-induced combustion for digestion of botanical samples and metals determination by ICP OES and ICP-MS. **Talanta**, 94, 308-314, 2012.

246. MESKO, M. F.; PEREIRA, J. S. F.; MORAES, D. P.; BARIN, J. S.; MELLO, P. A.; PANIZ, J. N. G.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M. Focused Microwave-Induced Combustion: A New Technique for Sample Digestion. **Analytical Chemistry**, 82, 2155-2160, 2010.

247. PEREIRA, J. S. F.; PEREIRA, L. S. F.; SCHMIDT, L.; MOREIRA, C. M.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. Metals determination in milk powder samples for adult and infant nutrition after focused-microwave induced combustion. **Microchemical Journal**, 109, 29-35, 2013.

248. ASTM D 4004-06, **Standard test methods for rubber – Determination of metals content by flame atomic absorption (AAS) analysis**, Annual Book of ASTM Standards, 2006.

249. ASTM D 2361-02, **Standard test method for chlorine in coal, Annual Book of ASTM Standards**, 2002.

250. ASTM D 3761-96, **Standard test method for total fluorine in coal by the oxygen bomb combustion/ion selective electrode method**, Annual Book of ASTM Standards, 1996 (reapproved 2002).

251. ASTM D 4208-02e1, **Standard test method for total chlorine in coal by the oxygen bomb combustion/ion selective electrode method**, Annual Book of ASTM Standards, 2002.

252. PEREIRA, R. M.; COSTA, V. C.; HARTWIG, C. A.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, E. M. M.; DUARTE, F. A.; MESKO, M. F. Feasibility of halogen determination in noncombustible inorganic matrices by ion chromatography after a novel volatilization method using microwave-induced combustion. **Talanta**, 147, 76-81, 2016.

253. BARIN, J. S.; BARTZ, F. R.; DRESSLER, V. L.; PANIZ, J. N. G.; FLORES, E. M. M. Microwave-Induced Combustion Coupled to Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Cadmium and Lead in Botanical Samples. **Analytical Chemistry**, 80, 9369-9374, 2008.

254. HOEHNE, L.; BARTZ, F. R.; BIZZI, C. A.; PANIZ, J. N. G.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Determination of Cd in blood by microwave-induced combustion coupled to flame furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 21, 978-984, 2010.

Capítulo 12

DECOMPOSIÇÃO PROMOVIDA POR RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

Ana Rita de Araujo Nogueira
Juliana Severo Fagundes Pereira
Marcos Yassuo Kamogawa

12.1. FUNDAMENTOS

A radiação ultravioleta (UV) constitui a porção do espectro eletromagnético localizada entre a radiação visível e os raios-X, com comprimentos de onda (λ) de 40 a 400 nm. A região UV é, geralmente, subdividida em UV-A (400-315 nm), UV-B (315-280 nm) e UV-C (280-100 nm) ou, ainda, em ultravioleta próximo (400-200 nm) e ultravioleta distante (ou no vácuo, $\lambda < 200$ nm).

A radiação UV pode ser produzida artificialmente por diferentes fontes, como as lâmpadas de deutério e de xenônio, as fluorescentes e as de vapor de mercúrio, além de alguns tipos de *lasers* (*lasers* de nitrogênio e de Nd:YAG) e diodos emissores de luz (LEDs). As lâmpadas de deutério e de xenônio são caracterizadas por alta estabilidade, mas também por intensidade limitada, sendo empregadas quase exclusivamente em equipamentos que necessitam de tais requisitos, o que justifica seu custo elevado. Nas lâmpadas de xenônio, o espectro de emissão abrange também as regiões visível e infravermelho, porém o fato de serem fontes dispendiosas, seu uso é restrito principalmente para aplicações que requerem a melhor reprodução artificial da radiação solar. Já as fluorescentes, apesar de mais acessíveis, têm emissão no UV limitada à região UV-A.

Alguns aspectos devem ser considerados para uso de lâmpadas de emissão de radiação UV para oxidação de matrizes orgânicas, como a região espectral e a intensidade de emissão, a temperatura operacional e o tempo de vida. As fontes de radiação podem ser classificadas, de acordo com as características de emissão, em fontes de linhas (*e.g.* lâmpadas de baixa pressão de Hg) e fontes contínuas (*e.g.* lâmpadas de alta pressão de Hg e H_2/D_2).[1] As lâmpadas comumente utilizadas para emissão de radiação UV são as de Hg, tendo em vista que o espectro deste elemento é rico em linhas de emissão nesta região; o potencial de ionização (10,34 eV) pode ser facilmente atingido e dificilmente ocorrem reações do Hg com o material do bulbo ou do eletrodo da lâmpada. Além do vapor de Hg, as lâmpadas contém um gás nobre, geralmente argônio, responsável por auxiliar nos processos de produção de elétrons, de íons e no transporte de corrente.[2-4]

As lâmpadas de Hg podem ser divididas em duas classes: lâmpadas que operam a baixa pressão (0,1 Pa) e lâmpadas que operam a pressões mais elevadas (< 0,1 MPa). As lâmpadas que operam a baixa pressão são constituídas por um tubo longo, confeccionado em vidro (15-40 mm de diâmetro), contendo um eletrodo

de tungstênio. O preenchimento é feito pela mistura de um gás inerte, como Ar e uma gota de Hg para manter o equilíbrio entre o líquido e o vapor durante a operação. As principais linhas de emissão dessas lâmpadas são 253,7 e 184,9 nm.[2] Em geral, a linha de emissão em 184,9 nm não é muito utilizada, tendo em vista que já foi observado que este comprimento de onda não desempenha papel importante para decomposição de compostos orgânicos.[5] O tempo de operação das lâmpadas de baixa pressão pode variar de forma significativa (5000-10000 h) e a potência utilizada normalmente é de 60 W.[2]

As lâmpadas de Hg que operam à média e alta pressão possuem dimensões menores (comprimento de 10-150 cm) e são mais estreitas (diâmetro de 10-40 mm) em comparação às lâmpadas de baixa pressão operando na mesma potência. As lâmpadas de alta pressão são equipadas com eletrodos que podem operar alternadamente como cátodo ou ânodo, com Hg apenas na forma de vapor. O espectro de emissão das lâmpadas de média pressão é mais rico que o espectro de uma lâmpada de baixa pressão e o tempo de vida é de aproximadamente 2000 h.[2] As lâmpadas de alta pressão possuem intensidade muito superior às demais e podem operar em temperaturas mais elevadas. Essa característica pode limitar o uso dessas lâmpadas, as quais podem promover o aquecimento da amostra e, consequentemente, perdas por evaporação.[5] No entanto, essa desvantagem foi contornada com o uso de equipamentos com sistema de arrefecimento.

Cabe lembrar que vidros de borossilicato não são transparentes no ultravioleta, o que pode resultar em redução de até 90% na radiação transmitida a 330 nm e de mais de 99% para comprimentos de onda menores que 320 nm. Por outro lado, a absorção de radiação UV pelo quartzo é significativa somente para $\lambda < 260$ nm. Essas observações são relevantes na escolha dos materiais de trabalho (por exemplo, recipientes e vidrarias), em função do tipo da fonte e do comprimento de onda utilizados.

A energia associada às ondas eletromagnéticas da região ultravioleta varia, aproximadamente, de 3 a 31 eV, conforme a frequência. Alguns exemplos são mostrados na Tabela 12.1.

A radiação UV possui energia suficiente para promover transições eletrônicas e, geralmente, quebra de ligações químicas de uma série de compostos, especialmente orgânicos (Tabela 12.2). A absorção de energia é o primeiro passo de toda reação fotoquímica, com a formação de espécies excitadas, na maioria das vezes

Tabela 12.1. Propriedades da radiação ultravioleta.[6]

Comprimento de onda (nm)	Regiões do espectro	Frequência (10^{14} Hz)	Energia por fóton (eV)	Energia correspondente (kJ mol^{-1})
400	Violeta	7,49	3,10	299
320	UV-A	9,37	3,88	374
290	UV-B	10,34	4,28	413
220	UV-C	13,63	5,64	544
190	UV distante	15,78	6,53	630
40	UV no vácuo	74,95	31,00	2991

Tabela 12.2. Energia de dissociação de ligações.[6]

A:B → A• + •B					
Ligação	**kJ mol^{-1}**	**Ligação**	**kJ mol^{-1}**	**Ligação**	**kJ mol^{-1}**
H-H	435	C_2H_5-H	410	C_6H_5-Br	301
H-F	569	C_2H_5-CH_3	356	$C_6H_5CH_2$-H	356
H-Cl	431	C_2H_5-Cl	339	$C_6H_5CH_2$-CH_3	293
H-Br	368	C_2H_5-Br	293	$C_6H_5CH_2$-Cl	285
H-I	297	H_2C=CH-H	452	$C_6H_5CH_2$-Br	213
F-F	159	H_2C=CH-CH_3	385	HO-CH_3	377
Cl-Cl	243	H_2C=CH-Cl	351	O=CO	531
Br-Br	192	H_2C=C_2H_3-H	368	H-NH_2	460
I-I	151	H_2C=C_2H_3-CH_3	301	H_2C=CH_2	720
CH_3-H	435	H_2C=C_2H_3–Cl	251	HC≡CH	962
CH_3-F	452	H_2C=C_2H_3-Br	197	HO-OH	213
CH_3-Cl	351	C_6H_5-H	460	H-OH	492
CH_3-Br	293	C_6H_5-CH_3	389	O_2N-NO_2	54
CH_3-I	234	C_6H_5-Cl	360	H-O	428

instáveis, que evoluem por processos não fotoquímicos (secundários), podendo resultar em rearranjos internos, ionização ou, ainda, no rompimento das ligações químicas. A cisão homolítica destas ligações dá origem aos chamados radicais livres, isto é, moléculas dotadas de um elétron desemparelhado (elétron livre) num de seus orbitais externos. Na cisão homolítica, os elétrons são igualmente repartidos entre os radicais formados. Esta condição torna as moléculas extremamente reativas, com

características de potentes oxidantes, ou seja, de receptor de elétrons, particularmente em relação às moléculas orgânicas.

Em solução aquosa, o processo pode atingir as moléculas de oxigênio dissolvido, seja por interação dessas moléculas com radicais alquila (R), seja por absorção direta de radiação UV por parte de O_2, com formação do oxigênio singlete ($^1O_2$). O processo pode envolver a formação de agentes oxidantes intermediários não radicalares como O_3 e H_2O_2, mas o radical hidroxila ($OH^\bullet$) é considerado a principal espécie oxidante. A geração dos radicais pode ser potencializada com a utilização de agentes auxiliares, como H_2O_2, Fe^{2+}, Fe^{3+}, $S_2O_8^{2-}$, O_3, NO_2^- e NO_3^- (em fase homogênea) e/ou TiO_2 ou ZnO/zeolita (em fase heterogênea), que podem atuar de forma catalítica em alguns casos, sendo a princípio regenerados durante o processo (Tabela 12.3). É o caso do Fe^{2+} nas reações de Fenton ($Fe^{2+}/H_2O_2/UV$) e do TiO_2 e do ZnO nos processos fotocatalíticos heterogêneos.

Tabela 12.3. Reações de geração de radicais com diferentes agentes oxidantes.

Processo	Reação	Referência
H_2O_2/UV	$H_2O_2 + h\nu \rightarrow 2\ OH^\bullet$	7
Fe^{2+}/H_2O_2	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^\bullet + OH^-$	7
Fe^{3+}/UV	$Fe^{3+} + OH^- + h\nu \rightarrow Fe^{2+} + OH^\bullet$	7
Fe^{3+}/H_2O_2	$Fe^{3+} + H_2O_2 \leftrightarrow [Fe^{3+}, HO_2^-] + H^+$ $[Fe^{3+}, HO_2^-] \rightarrow Fe^{2+} + HO_2^\bullet$ $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^\bullet + OH^-$	7
$Fe^{3+}/H_2O_2/UV$	$Fe^{3+} + OH^- + h\nu \rightarrow Fe^{2+} + OH^\bullet$ $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^\bullet + OH^-$ $H_2O_2 + h\nu \rightarrow 2\ OH^\bullet$	7
$S_2O_8^{2-}/UV$	$S_2O_8^{2-} + h\nu \rightarrow 2SO_4^{-\bullet}$ $SO_4^{-\bullet} + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + OH^\bullet + H^+$	8
O_2-O_3/UV	$O_2 + h\nu \rightarrow 2O^\bullet$ $O^\bullet + O_2 \rightarrow O_3$ $O_3 + H_2O + h\nu \rightarrow H_2O_2 + O_2$ $H_2O_2 + h\nu \rightarrow 2\ OH^\bullet$	2
NO_2^-/UV	$NO_2^- + H_2O + h\nu \rightarrow NO + OH^- + OH^\bullet$	2
NO_3^-/UV	$NO_3^- + H_2O + h\nu \rightarrow NO_2 + OH^- + OH^\bullet$	2
TiO_2/UV	$TiO_2 + h\nu \rightarrow TiO_2\ (e^-_{bc} + h^+_{bv})$ * $TiO_2(h^+) + H_2O \rightarrow TiO_2 + OH^\bullet + H^+$ $TiO_2(e^-) + O_2 \rightarrow TiO_2 + O_2^{-\bullet}$	2
ZnO/UV	$ZnO + h\nu \rightarrow ZnO\ (e^-_{bc} + h^+_{bv})$ * $ZnO(h^+) + H_2O \rightarrow ZnO + OH^\bullet + H^+$ $ZnO(e^-) + O_2 \rightarrow ZnO + O_2^{-\bullet}$	9

* bc = banda de condução, bv = banda de valência.

12.2. DIGESTÕES COM RADIAÇÃO UV

A digestão por radiação UV, foto-oxidação ou fotólise, foi proposta por Beattie *et al.* em 1961 como um eficiente método para decomposição de compostos orgânicos em amostras de água.[10] Desde então, tem sido amplamente explorada principalmente para amostras líquidas, como águas naturais, efluentes de sistemas de tratamento de esgoto doméstico e industriais, fluídos biológicos, bebidas e extratos de solos.[2,11] Sua utilização ganhou destaque com o aprimoramento das técnicas eletroanalíticas, que geralmente requerem soluções com baixos teores de matéria orgânica dissolvida e, principalmente, com concentrações ácidas relativamente baixas.

Os sistemas comerciais de preparo de amostras são configurados de maneira similar ao inicialmente proposto por Armstrong[11]: uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta potência (500-1000 W) em posição axial, irradia as amostras em tubos de quartzo (6-12 tubos), os quais são posicionados ao redor da lâmpada. Devido à alta potência da lâmpada, as câmaras possuem aparatos para o controle da temperatura, que incluem a refrigeração com fluxo de água e ventoinhas para dissipação do calor, além de sistemas de segurança com proteção, que evita a incidência da radiação UV diretamente no operador. A Figura 12.1 exemplifica este arranjo.

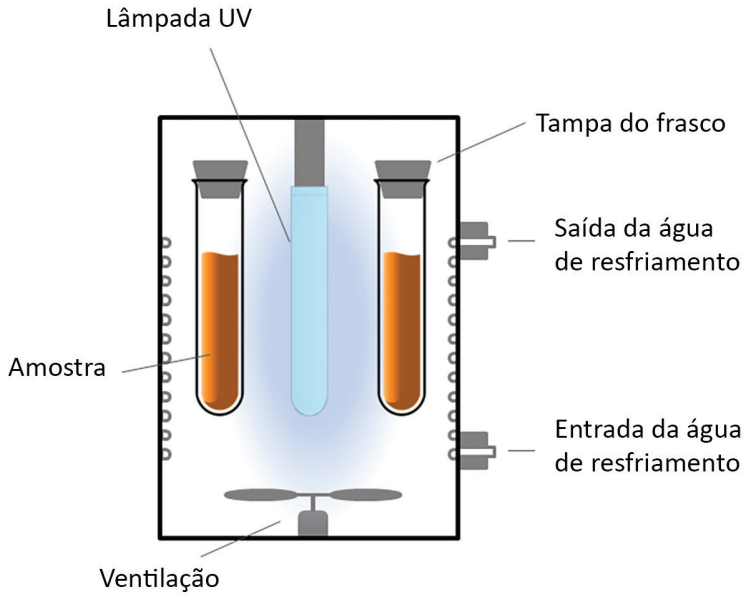

Figura 12.1. Sistema típico de preparo de amostras empregando radiação UV.

Equipamentos voltados à digestão de amostras aquosas com baixos a médios teores de matéria orgânica também são comercialmente disponíveis. Esses equipamentos, normalmente utilizados para a determinação de íons metálicos e contaminantes, são configurados para operar em sistemas em fluxo, com as amostras repetidamente expostas à radiação UV. Tipicamente, são empregadas uma ou duas lâmpadas de menor potência (4-10 W).

Para maior eficiência de digestão, normalmente adiciona-se peróxido de hidrogênio às amostras. A decomposição da matéria orgânica envolve a geração de radicais hidroxila a partir do H_2O_2, pelo efeito fotolítico. Os radicais atacam a matéria orgânica presente na amostra, degradando-a e, em última instância, convertendo-a a CO_2. Temperaturas da ordem de 80 a 100 ºC são obtidas, o que acelera a digestão e é suficiente para a quebra dos compostos orgânicos, mas evita perdas por volatilização dos elementos de interesse.[12]

Além de amostras líquidas, a fotólise também foi aplicada a outros tipos de amostras (*e.g.* determinação de Se em alimentos). Normalmente, são necessárias condições drásticas para a decomposição de compostos orgânicos de selênio resistentes ao ataque por ácidos, tais como a selenometionina e o íon trimetilselênio, principais compostos presentes nos alimentos.[13] Digestão por radiação micro-ondas é uma alternativa, porém existe a restrição da elevada concentração ácida da amostra, principalmente quando os teores presentes estão próximos aos limites de detecção da técnica empregada para as determinações. Nesse caso, a radiação UV aparece como alternativa. Os autores utilizaram equipamento comercial equipado com lâmpada de vapor de mercúrio de 500 W. A radiação UV se refletia nas amostras por meio de um espelho que circundava os vasos de quartzo de forma a aumentar a incidência da radiação e o controle da temperatura das amostras era feito com um sistema de ventilação e com uso de óleo. O sistema foi avaliado para digestão de material de referência certificado e se mostrou adequado para o preparo de diferentes tipos de alimentos e posterior determinação de Se por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS).[14]

A fotólise foi aplicada para o preparo de amostras de água do mar,[15] mel,[16] medicamentos[17,18] e urina,[19] entre outras. Os autores empregaram diferentes estratégias, todas explorando os mecanismos de destruição da matéria orgânica pela UV com o emprego de reagentes auxiliares para o incremento da geração de radicais hidroxila.

12.2.1. Mecanismo de destruição de material orgânico por fotólise com radiação UV

O espectro eletromagnético produzido pelas lâmpadas de vapor de Hg de alta pressão é rico em linhas na faixa do UV (40-400 nm), com pronunciada emissão em 254 nm. A ação da radiação UV nos compostos orgânicos dissolvidos resulta na formação de muitos compostos intermediários, tais como oxigênio singlete e radicais hidroxila. No entanto, a quebra de ligações orgânicas também requer a adição de substâncias que facilitem o processo de oxidação. Entre essas substâncias incluem-se H_2O_2, O_3, $K_2S_2O_8$, $K_2Cr_2O_7$ e HNO_3. Na presença desses oxidantes, a radiação UV tem um caráter catalítico.[2]

Nos mecanismos de decomposição da matéria orgânica pelos radicais livres, a degradação completa passa pela substituição/remoção dos grupamentos e pela reestruturação das moléculas orgânicas, que por sua vez são sucessivamente oxidadas pelos radicais até a forma de CO_2 ou compostos voláteis de baixo peso molecular.[20-22] Um exemplo destes mecanismos é apresentado Figura 12.2.

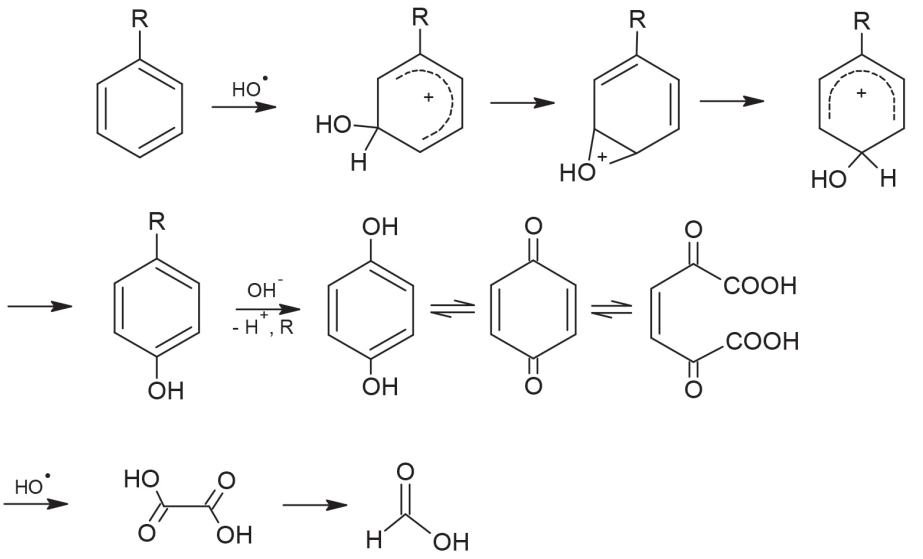

Figura 12.2. Esquema reacional da degradação de compostos aromáticos por radicais hidroxila.

Mecanismos similares podem ocorrer para estruturas alifáticas, em que sucessivas clivagens resultam na decomposição do composto orgânico acarretando na diminuição do teor de carbono orgânico da solução. No anel aromático ou nas

olefinas, o radical hidroxila inicia a reação, geralmente, por meio de uma adição eletrofílica. Numa cadeia alifática, essa espécie causa a extração de um hidrogênio com a geração de um radical alquila, como na Figura 12.3.

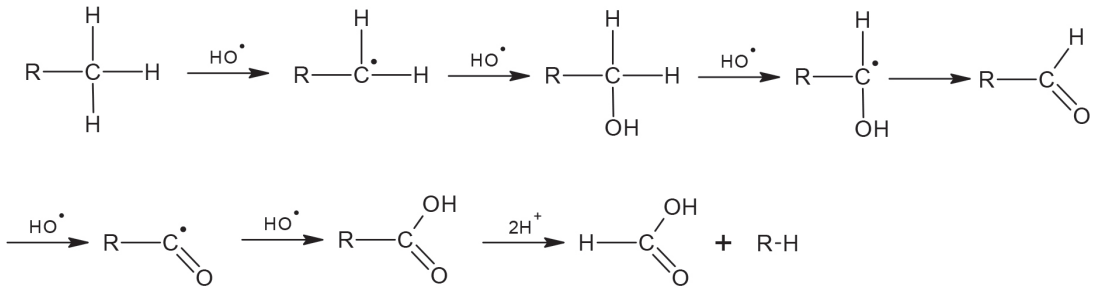

Figura 12.3. Esquema reacional da degradação de compostos alifáticos por radicais hidroxila.

A formação dos radicais oxidantes e a sucessiva clivagem dos compostos orgânicos de alta massa molecular são os pontos chave do procedimento de preparo de amostras com emprego da radiação UV, pois resultam na mineralização (conversão a CO_2, H_2O e, eventualmente, NO_3^-, SO_4^{2-} e PO_4^{3-}) ou, pelo menos, na fragmentação de complexas estruturas orgânicas que poderiam afetar a detecção dos analitos. O sucesso deste procedimento de decomposição depende de vários fatores, destacando-se o método de determinação, o analito e a concentração da fração orgânica na amostra. A degradação completa é fator imprescindível em procedimentos de determinação de C, N, S e P totais, também realizáveis com esta técnica de tratamento.[23]

Em determinados casos, se a matriz não interferir significativamente no processo de detecção e as moléculas orgânicas não sofrerem degradação nesta etapa, a quantificação poderá ser realizada antes e depois da digestão do material orgânico, possibilitando distinguir entre a fração do analito ligada a um substrato orgânico e a porção livre (ou ligada ao substrato orgânico de maneira lábil).[24] Essa alternativa é viável quando combinada a métodos de determinação que apresentem baixo poder de decomposição do material orgânico, característica típica das técnicas eletroanalíticas, as quais, por outro lado, são mais sujeitas a problemas de interferência por constituintes da matriz orgânica.

Existe também a possibilidade de utilizar a radiação UV como técnica de preparo de amostra para a conversão de espécies inorgânicas em diferentes estados de oxidação, proporcionando, também, a discriminação de formas distintas de

um mesmo elemento químico como, por exemplo, Cr(III)/Cr(VI), As(III)/As(V), Se(IV)/Se/(VI) e NO_2^-/NO_3^-.[24] O principal destaque do uso da radiação UV nesses casos é a possibilidade do uso de ácidos diluídos ou até mesmo a não utilização de ácidos. Cabe, ainda, citar o desenvolvimento de sistemas em que o tratamento com radiação UV é acoplado a etapas de separação, o que potencializa sua aplicação em estudos de especiação.[25-27] Neste caso, normalmente é empregada uma coluna cromatográfica para a separação de diferentes formas metalo-orgânicas de elementos, como As, Se, Sn e Hg, que sucessivamente são decompostas por irradiação UV e determinadas, geralmente, com técnicas espectroanalíticas.

O processo de mineralização UV utilizado para a decomposição de muitos compostos orgânicos explora a alta reatividade dos radicais hidroxila gerados pelo peróxido de hidrogênio durante a fotólise.[28] Quando exposto à ação da radiação UV, o H_2O_2 se decompõe formando radicais $OH^\bullet$ que iniciam reações em cadeia envolvendo substâncias orgânicas presentes nas amostras. Além de sua capacidade oxidante, o ácido nítrico auxilia a dissociação do íon metálico com espécies orgânicas. Os nitratos são também a principal fonte de radicais $OH^\bullet$, como pode ser observado pelas seguintes equações.

$$NO_3^- + H_2O + h\nu \rightarrow NO_2^- + OH^- + OH^\bullet$$

Durante a irradiação UV sobre os íons nitrato, íons nitrito são formados e, em interação com a radiação UV, produzem mais radicais $OH^\bullet$:

$$NO_2^- + H_2O + h\nu \rightarrow NO + OH^- + OH^\bullet$$

Assim, a presença de ácido nítrico é essencial para a fotólise UV de ligações orgânicas. Além disso, reduz o tempo necessário para a digestão de compostos orgânicos.

Sistemas de preparo de amostra "*lab-made*" de modo geral empregam lâmpadas de alta potência para a irradiação das amostras através de janelas transparentes à radiação UV (geralmente sílica fundida). Os primeiros sistemas consistiam na imersão da lâmpada de mercúrio no frasco reacional, como exemplificado pela Figura 12.4.[29] No entanto, esse procedimento apresenta desvantagens, tais como a contaminação da amostra e a possibilidade de corrosão da lâmpada, o que limita o tipo

e a concentração dos reagentes utilizados. Como forma de evitar esses problemas, a maioria dos procedimentos descritos na literatura emprega sistemas em batelada ou em fluxo. Os sistemas em batelada são similares ao apresentado na Figura 12.1.

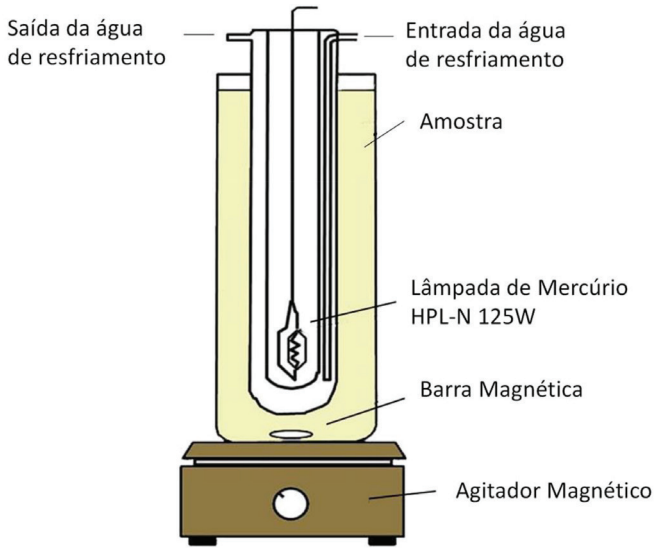

Figura 12.4. Sistema de preparo de amostra empregando radiação UV com lâmpada inserida na solução (adaptado de Chen *et al.*[29]).

O tratamento de volumes maiores de amostra ou o tratamento em linha podem ser realizados em sistemas de decomposição em fluxo, nos quais a amostra é constantemente bombeada através de um reator irradiado por radiação UV. A Figura 12.5 ilustra um exemplo das câmaras empregadas em sistemas de decomposição em fluxo, nas quais é possível realizar a analise diretamente, com a adição de reagentes adequados.

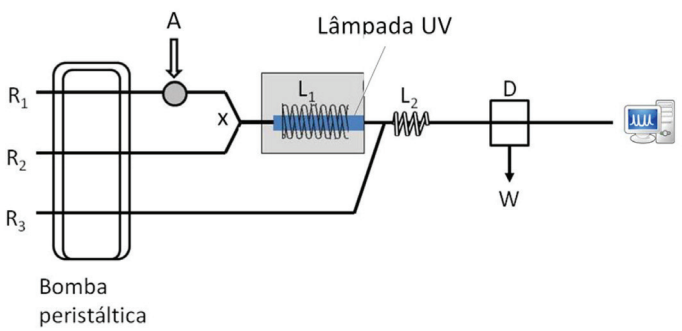

Figura 12.5. Sistema de decomposição de amostras empregando radiação UV em fluxo. R_1: transportador, R_2: reagentes oxidantes (H_2O_2; HNO_3); R_3: reagente cromogênico ou complexante, A: amostra, x: confluência, W: descarte.

Nos sistemas em fluxo, a amostra flui através de uma bobina ao redor de uma lâmpada de UV, constituindo o reator fotoquímico. Reatores de quartzo, embora desejáveis, apresentam a desvantagem de uma maior fragilidade e custo elevado. Alternativas são as bobinas construídas de tubos de politetrafloretileno (PTFE), que permitem a transmissão de quantidade suficiente de radiação ultravioleta[2]. Embora nos primeiros modelos tenham sido utilizadas lâmpadas de alta potência, a maioria dos sistemas atuais utiliza lâmpadas de 10 W, tornando desnecessário o resfriamento.[28]

A decomposição de amostras em sistemas em batelada e em fluxo segue procedimentos semelhantes, com diferenças apenas nos volumes de amostra tratada e na eficiência de irradiação, principalmente na segunda modalidade, onde é possível aumentar o tempo de exposição da amostra à radiação através de esquemas de refluxo. Assim, pode-se constatar uma sequência geral de operações para a digestão UV, conforme as seguintes etapas:

- Transferência da amostra para os frascos de irradiação (geralmente de quartzo);
- Adição opcional de um agente oxidante auxiliar: o peróxido de hidrogênio é o mais utilizado, por gerar facilmente radicais hidroxila ($OH^{\bullet}$) e por resultar na formação de H_2O. Outros oxidantes, como HNO_3 e $S_2O_8^{2-}$, também podem ser utilizados;
- Fechamento do frasco e subsequente posicionamento no ponto focal da radiação UV: os frascos fechados evitam a evaporação da amostra e, também, a contaminação externa. Porém, não havendo problemas de perdas do analito, o fechamento hermético do recipiente não é imprescindível e tampas com uma leve folga ajudam a reduzir os riscos associados ao aumento da pressão a temperaturas operacionais de, geralmente, 60 a 80 °C;
- Irradiação: pode variar de alguns minutos a algumas horas, dependendo da concentração e da composição da matéria orgânica, além de outros parâmetros operacionais, tais como o tipo e a potência da lâmpada, a presença de aditivos e a temperatura.

Após a irradiação, a amostra está pronta para a determinação, usualmente não necessitando de nenhuma diluição posterior. Caso haja evaporação de água, o volume deverá ser ajustado. Algumas características favoráveis ao preparo de amostras com radiação UV merecem destaque:

- Não há necessidade da adição de reagentes, exceto de oxidantes auxiliares, em alguns casos, o que diminui o risco de contaminações ou a diluição das amostras devido ao emprego de ácidos oxidantes concentrados;
- A decomposição é realizada em baixas temperaturas, evitando a perda de elementos voláteis;
- É possível a decomposição de um grande volume de amostra;
- Os sistemas são de fácil construção, podendo ser implementados na forma de batelada ou em fluxo;
- O procedimento é de baixo risco para o operador, por trabalhar em baixas temperaturas e não requer agentes oxidantes concentrados.

Por outro lado, os sistemas de digestão UV apresentam algumas desvantagens:

- O tempo de digestão, de modo geral, é longo, sendo necessárias algumas horas de irradiação;
- Limitada capacidade de extração em amostras sólidas, sendo necessária uma prévia solubilização das mesmas;
- A eficiência da decomposição diminui com o aumento do teor de matéria orgânica. Em alguns casos, observam-se elevados teores de carbono residual.

Além dos precursores auxiliares para espécies oxidantes, como os já citados H_2O_2, HNO_3 e $S_2O_8^{2-}$, pode-se recorrer ao uso de fotocatalisadores em fase sólida, como TiO_2 em suspensão ou imobilizado em substrato inerte.[30] Neste caso, com o aproveitamento de uma faixa mais ampla de radiação UV, decorrente do fato de o TiO_2 ser fotossensível já abaixo de 384 nm, tem-se as vantagens da maior geração de espécies radicalares e de uma maior flexibilidade no tipo de fonte luminosa e de recipientes para a amostra durante a exposição. A contaminação por parte do fotocatalisador ou a adsorção do analito sobre a sua superfície são aspectos que precisam ser cautelosamente avaliados na adoção deste tipo de tratamento. A digestão UV assistida por Fe_0, explorando a reação Fenton, foi proposta para a determinação de níveis traço de Cd em arroz por espectroscopia de fluorescência atômica com geração de hidretos. Neste sistema, o Fe foi separado da solução após a digestão por um imã encostado ao frasco reacional, sendo a solução sobrenadante direcionada para analise.[31]

A fotólise pode ser empregada, além da determinação total, em análises de

especiação química. Na determinação total, o principal objetivo é a destruição da matéria orgânica presente na amostra. Nesse caso são necessárias condições drásticas, buscando-se evitar a presença de interferentes e, para tanto, são utilizadas lâmpadas UV de alta-pressão ou os diferentes precursores e catalisadores. No caso de especiação química, é explorada a extração de uma espécie do analito para uma espécie específica, adequada para a detecção, possibilitando a análise.[24]

A transformação das espécies orgânicas com o emprego da radiação UV ampliou o emprego dos métodos de geração de hidretos e vapor a frio em diversos tipos de amostra.[28] A radiação UV em muitas dessas aplicações é utilizada para a transformação das espécies metálicas, que originalmente não formam hidretos. Uma possibilidade é o emprego da radiação UV para o tratamento de amostras pós-coluna em técnicas que envolvem acoplamento, tais como HPLC-UV-HGAAS, LC-UV-HGAAS, LC-UV-HG-ICP OES ou LC-UV-HGAFS como uma interface nos estudos de especiação química.[28]

Aplicação mais recente e que rapidamente tem apresentado novos desenvolvimentos, foi proposta por Sturgeon *et al.*[32-35] Trata-se do emprego de reações fotoquímicas para converter os analitos em espécies voláteis com o auxílio de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, tais como os ácidos fórmico e propiônico. Neste caso é explorada a foto-redução, que substitui os reagentes normalmente utilizados na geração de hidretos, tais como $NaBH_4$, a partir da formação de radicais $H^{\bullet}$ e $CO^{\bullet}$.[33] Embora, Se e Hg sejam os elementos mais estudados,[36,37] a geração fotoquímica pode ser aplicada a outros elementos metálicos e não metálicos, tais como iodo.[33] Técnicas sensíveis são fundamentais para a determinação, como ICP-MS com tempo de voo (ICP-TOF-MS).[36]

Aplicações da radiação UV têm se tornado mais abrangentes com o uso em novos nano-materiais, sistemas em fluxo e sistemas combinados com outras técnicas de decomposição, como a decomposição assistida por radiação micro-ondas.

12.3. COMBINAÇÃO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E RADIAÇÃO MICRO-ONDAS

A maioria dos trabalhos que combinam a radiação UV e a radiação micro-ondas versam sobre sistemas não comerciais que operam em batelada e em fluxo.

Grande parte dos trabalhos enfoca sínteses orgânicas ou degradação de compostos orgânicos, como efluentes e corantes.

As lâmpadas de descarga sem eletrodo são constituídas por um bulbo e, quando submetidas à irradiação com micro-ondas, os gases presentes no interior são ionizados, formando um plasma de baixa pressão. Os materiais presentes no bulbo são então excitados, emitindo radiação na região UV após o relaxamento.[38-41] A aceleração dos elétrons, influenciada pelo campo eletromagnético da radiação micro-ondas, catalisa as colisões com os átomos na fase gasosa, promovendo a ionização e liberando mais elétrons (efeito avalanche).

A inserção de lâmpadas UV na cavidade de um forno de micro-ondas é possível quando uma lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL) contendo uma antena é usada no frasco reacional. Nesse caso, a antena metálica foca a energia da radiação micro-ondas no interior do bulbo da lâmpada, aumentando o campo elétrico no ambiente. Devem ser utilizados gases nobres, sendo mais usados o Ar e He a baixa pressão (0,001 a 0,01 bar).[1]

A primeira aplicação combinando o uso simultâneo das radiações UV e micro-ondas foi proposta por Florian e Knapp[36] em 2001, no preparo de amostras de leite. Os autores utilizaram uma lâmpada EDL, que emitia radiação UV com a incidência de radiação micro-ondas, inserida em frasco convencionalmente utilizado para decomposição assistida por radiação micro-ondas em sistema de alta pressão (Figura 12.6). Nesse caso, utilizou-se lâmpada EDL de Cd (emissão de radiação UV em 228 nm), acionada pela recepção da radiação micro-ondas na cavidade do forno de micro-ondas.

A EDL de Cd (Figura 12.6) foi feita em quartzo (1 mm de espessura) e preenchida com 1 mg de Cd e 4 mbar de Ar. A inserção de uma antena metálica foi necessária para possibilitar a focalização da radiação micro-ondas na EDL, já que a lâmpada permanece imersa na solução, o que minimiza seu contato com a radiação micro-ondas. A antena foi confeccionada com uma folha de molibdênio diretamente incorporada ao quartzo para evitar contato entre o metal e a solução da amostra. Além disso, utilizou-se um fio de tungstênio para estabelecer o contato da folha de Mo com o bulbo de quartzo. Tendo em vista a forma como esse sistema opera, não é necessário utilizar uma fonte externa para acionar as lâmpadas, bem como utilizar um sistema de arrefecimento externo. A alimentação, o arrefecimento e o controle de temperatura no interior do frasco reacional são feitos no próprio

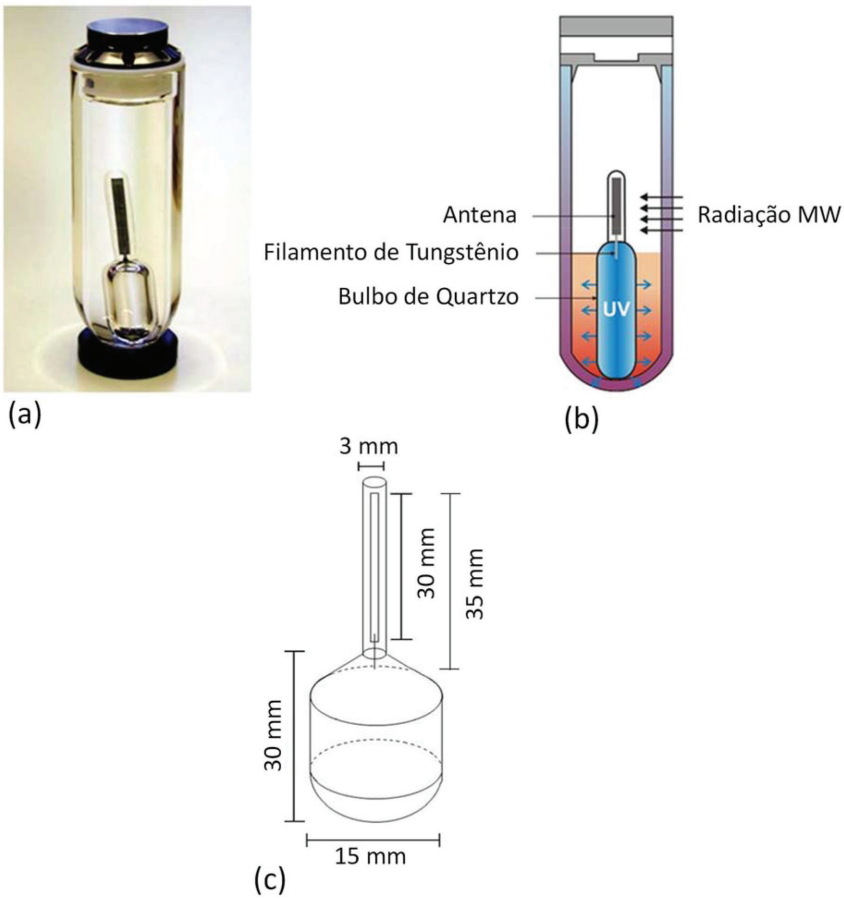

Figura 12.6. Lâmpada ativada por radiação micro-ondas a) no frasco de quartzo da Anton Paar (www.anton-paar.com), b) detalhe do sistema utilizado (adaptado de Florian e Knapp[38]) e c) dimensões da lâmpada.

forno de micro-ondas. Um aspecto importante destacado pelos autores é que a intensidade da radiação da EDL, durante o processo de decomposição da amostra depende da energia da radiação micro-ondas absorvida com potências inferiores a 1 W e superiores a 10 W.[38] Em comparação aos sistemas convencionais de decomposição UV, o tempo de preparo foi reduzido em cerca de 5 vezes e os teores de carbono orgânico dissolvido foram 50 vezes menores. Os baixos volumes de agente oxidante, 50 µL de HNO_3 e 1 mL de H_2O_2, foram suficientes para obter recuperações quantitativas dos analitos. Com a aplicação simultânea das duas formas de radiação, tem-se um interessante sinergismo entre o efeito térmico e a ação fotoquímica. Como desvantagens, os autores ressaltaram a impossibilidade de ativar a MWL a baixas temperaturas e os superaquecimentos, que causam falhas de emissão, interrompendo a emissão de UV.

Alguns trabalhos relatam que a degradação de compostos orgânicos foi mais eficiente utilizando-se EDL quando em comparação com lâmpada UV de vapor de mercúrio. Isso seria esperado, pois, na maioria dos casos, quando lâmpadas convencionais são utilizadas, a decomposição é feita apenas pela incidência de radiação UV, ao invés da combinação entre radiação UV e radiação micro-ondas. Por outro lado, outros autores reportaram que não houve diferença na eficiência das lâmpadas de EDL em comparação com lâmpadas utilizadas convencionalmente em decomposições assistidas por radiação UV. Církva *et al.*[42] compararam a eficiência de EDL e de lâmpadas de eletrodo convencionais para síntese orgânica, utilizando lâmpadas com as mesmas dimensões, e não observaram aumento na eficiência da reação quando a EDL foi usada. Ressalta-se que isso ocorreu quando as dimensões da EDL foram alteradas.[43]

Entre as vantagens do uso combinado entre as radiações UV e micro-ondas, cabe destacar a possibilidade de utilizar ácidos diluídos na etapa de decomposição e elevadas temperaturas, que proporcionam baixos teores de carbono residual nos digeridos obtidos e baixo risco de perdas de analito por volatilização (sistema fechado). Além disso, ocorre máxima absorção de radiação UV pela solução quando as lâmpadas são posicionadas no interior do frasco de reação e é possível controlar a pressão e a temperatura, em tempo real, durante o programa de aquecimento. Por outro lado, o aquecimento excessivo pode reduzir sua vida util.[44] É importante considerar que, como as lâmpadas UV geralmente são imersas nos frascos com as amostras, problemas de contaminação poderão ocorrer se os dispositivos que integram esse sistema não forem devidamente descontaminados, especialmente quando se visa à determinação de elementos-traço. Outra desvantagem ocorre em decomposições com pequenos volumes de amostras e reagente(s), pois, geralmente, nesta condição, em função do tamanho e da geometria, as lâmpadas ficam cobertas apenas parcialmente pelas soluções, sendo parte da radiação perdida com baixo aproveitamento da radiação UV.

Atualmente, as lâmpadas EDL de Cd utilizadas para decomposição de amostras são disponibilizadas comercialmente pela Anton Paar GmbH, Graz, Áustria e o modelo proposto por Florian e Knapp[38] foi modificado, conforme mostrado na Figura 12.7.

Neste modelo, a lâmpada é protegida por alguns dispositivos de PTFE, que são constituídos por um anel de base (colocado na parte inferior do frasco para

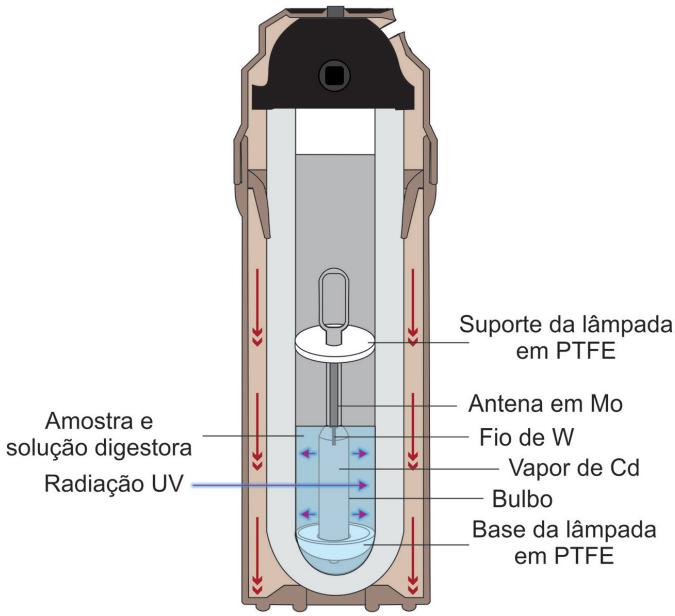

Figura 12.7. Detalhe da lâmpada de EDL-Cd inserida no frasco de quartzo para decomposição.

posicionar a lâmpada no seu interior) e um disco espaçador para evitar choques da lâmpada com as paredes de quartzo do frasco durante o aquecimento. Além disso, a parte superior da lâmpada possui uma alça para facilitar a inserção da lâmpada no interior do frasco, bem como sua retirada após o término do programa de aquecimento e resfriamento dos frascos.

Nos últimos anos, algumas aplicações têm sido propostas para matrizes de difícil decomposição, como petróleo e derivados[45-47], biodiesel[48], margarina[49] e chocolate.[50] Limbeck[51] utilizou esse sistema para promover a degradação de compostos orgânicos presentes em águas naturais e, posteriormente, o procedimento foi aplicado à decomposição de material particulado. Os autores observaram uma redução significativa no teor de carbono residual nas amostras com maiores potências de irradiação com micro-ondas (1000 W), empregando-se H_2O_2 além de HNO_3. Posteriormente, foi feita a determinação de Pd nas soluções resultantes.

Dash *et al.*[52] utilizaram o sistema comercial para decomposição assistida por radiação UV e radiação micro-ondas para decomposição de ácido desoxirribonucleico (DNA). O método foi proposto para estimar o teor de DNA em alguns testes clínicos para diagnóstico e para estimar a quantidade de organismos geneticamente modificados através da determinação de fósforo. Este método permitiu o

uso de soluções ácidas diluídas para promover a decomposição das amostras (200 μL de HCl 7,5%, 100 μL de HNO_3 2,6% e 500 μL de H_2O_2 30%). Cabe destacar que pequenas porções amostradas foram utilizadas (25 a 400 μg) em função das características das amostras. Mesko *et al.*[53] utilizaram este mesmo método para a decomposição de 700 mg de amostras de algas com ácido nítrico diluído (2 mol L^{-1}) para determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS.

Sistemas para a geração de radiação UV ativadas por radiação micro-ondas também estão disponíveis no mercado na forma de frascos e tubos, nos quais ocorre a emissão da radiação UV diretamente na solução contida em seu interior (Figura 12.8). Esses frascos utilizam o mesmo princípio de funcionamento das EDLs, contendo vapor de mercúrio no seu interior, e os átomos, quando excitados pelas micro-ondas, emitem radiação UV.

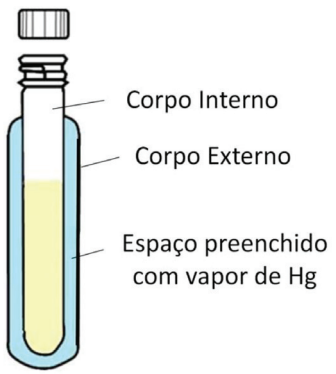

Figura 12.8. Frasco da UMEX de radiação UV ativada por radiação micro-ondas (Umex GmbH Dresden, 2008). Corpo interno de sílica fundida e corpo externo de vidro borossilicato. Maiores informações no site www.umex.de/umex_bra/index.htm (acessado em maio 2016).

Horikoshi *et al.*,[48] utilizando a ativação da lâmpada de vapor de mercúrio pela radiação micro-ondas, propuseram um sistema de fotodegradação em fluxo, no qual duas lâmpadas de UV de 19 cm com vapor de mercúrio-neônio são posicionadas paralelamente a um tubo de quartzo de igual comprimento, através do qual a amostra circula em fluxo contínuo (Figura 12.9). Nessa configuração, as amostras são simultaneamente aquecidas e irradiadas por UV, produzindo uma eficiente degradação dos compostos orgânicos.

Independentemente do sistema de digestão utilizado, o uso da radiação ultravioleta para decomposição de compostos orgânicos se restringe a amostras usualmente na forma líquida. Entretanto, possui inúmeras vantagens comparativamente a

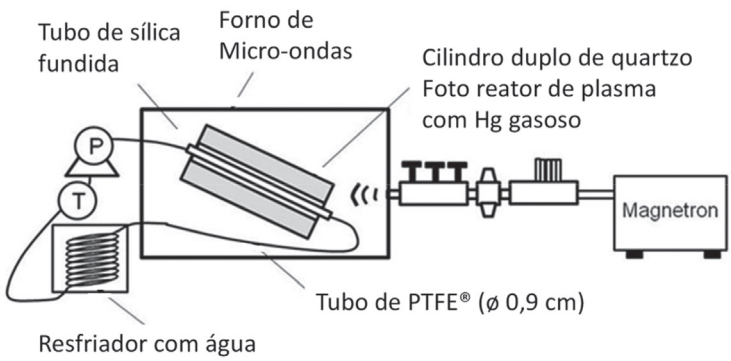

Figura 12.9. Sistema de fotodegradação com radiações UV e micro-ondas. P: bomba peristáltica; T: sensor de temperatura. Adaptado de Horikoshi *et al.*[48]

outras estratégias de preparo de amostras, podendo ser realizada com baixas concentrações ou, até mesmo, na ausência de ácidos. Além disso, é possível processar grandes volumes de amostras e a decomposição pode ser realizada em baixa temperatura, com menores riscos de contaminação. Cabe destacar que, devido à obtenção de uma solução final com baixa acidez, o emprego da radiação UV para preparo de amostras é muito apropriado para técnicas eletroanalíticas e em procedimentos envolvendo separações, concentrações em resinas e extração líquido-líquido. Apresenta facilidade de interface com técnicas hifenadas, reduzidos efeitos matriciais, com baixos valores de branco analítico, o que melhora a detectabilidade, além de ser um procedimento relativamente simples e seguro.[36]

REFERÊNCIAS

1. FLORIAN, D. Institute of Analytical Chemistry, **Micro-and Radiochemistry**, Technical University of Graz, Graz, 2000,120 p.
2. GOLIMOWSKI, J.; GOLIMOWSKA, K. UV-photooxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental sample. **Analytica Chimica Acta**, 325, 111 - 206, 1996.
3. PHILLIPS, R. **Sources and applications of ultraviolet radiation**. London, New York, Academic Press, 1983, 434 p.
4. PEREIRA, J.S.F.; WILTSCHE, H.; KNAPP, G. **Microwave-Assisted Ultraviolet Digestion**, in: Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination, Oxford, Elsevier, 2014, p. 205-230.

5. KOLB, M.; RACH, P.; SCHÄFER, J.; WILD, A. Investigations of oxidative UV photolysis. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 342, 341-349, 1992.

6. ATKINS, P.W. **Physical chemistry**. Oxford: Oxford University Press, 1994, 218 p.

7. DE LAAT, J.; GALLARD, H.; ANCELIN, S.; LEGUBE, B. Comparative study of the oxidation of atrazine and acetone by H_2O_2/UV, Fe(III)/UV, Fe(III)/H_2O_2/UV and Fe(II) or Fe(III)/H_2O_2. **Chemosphere**, 39, 2693-2706, 1999.

8. WANG, Y.; HONG, C.S. Effect of hydrogen peroxide, periodate and persulfate on photocatalysis of 2-chlorobiphenyl in aqueous TiO_2 suspensions. **Water Research**, 33, 2031-2036, 1999.

9. DANESHVAR, N.; SALARI, D.; KHATAEE, A.R. Photocatalytic degradation of azo dye acid red 14 in water on ZnO as an alternative catalyst to TiO_2. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 162, 317-322, 2004.

10. BEATTIE, J.; BRICKER, C.; GARVIN, D. Photolytic determination of trace amounts of organic material in water. **Analytical Chemistry**, 33, 1890-1892, 1961.

11. ARMSTRONG, F.A.J.; WILLIAMS, P.M.; STRICKLAND, J.D.H. Photo-oxidation of organic matter in sea water by ultra-violet radiation, analytical and other applications, **Nature**, 211, 481-483, 1966.

12. BRENNAN, M. **A Practical Approach to Quantitative Metal Analysis of Organic Matrices**. John Willey & Son, 2008, 276 p.

13. SMRKOLJ, P.; STIBILJ, V. Determination of selenium in vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, 512, 11-17, 2004.

14. MANJUSHA, R.; DASH, K.; KARUNASAGAR, D. UV-photolysis assisted digestion of food samples for the determination of selenium by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). **Food Chemistry**, 105, 260-265, 2007.

15. ACHTERBERG, E.P.; VAN DEN BERG, C.M.G. Automated voltametric system for shipboard determination of metal speciation in seawater. **Analytica Chimica Acta,** 284, 463-471, 1994.

16. BULDINI, P.L.; CAVALLI, S.; MEVOLI, A.; SHARMA, J.L. Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy and transition metals in honey. **Food Chemistry**, 73, 487-495, 2001.

17. DOGAN, S.; KIDAK, R. A Plug flow reactor model for UV-based oxidation of amoxicillin. **Desalination and Water Treatment**, 57, 13586-13599, 2016.

18. JAFARI, S.J.; MOUSSAVI, G.; HOSSAINI, H. Degradation and mineralization of diazinon pesticide in UVC and UVC/TiO_2 process. **Desalination and Water Treatment**, 57, 3782-3790, 2016.

19. PHILIPPEIT, G.; ANGERER, J. Determination of palladium in human urine by high-performance liquid chromatography and ultraviolet detection after ultraviolet photolysis and selective solid-phase extraction. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, 760, 237-245, 2001.

20. CORIN, N.; BACKLUND, P.; KULOVAARA, M. Degradation products formed during UV-irradiation of humic water. **Chemosphere**, 33, 245-255, 1996.

21. NEFFRECHOUX, E.; CHANOUS, S.; PETRIER, C.; SUPTIL, J. Sonochemical and photochemical oxidation of organic matter. **Ultrasonic sonochemistry**, 7, 255-259, 2000.

22. WANG, G.S.; HSIEH, S.T.; HONG, C.S. Destruction of humic acid in water by UV light-catalyzed oxidation with hydrogen peroxide. **Water Research**, 34, 3883-3887, 2000.

23. OMS, M.T.; CERDÀ, A.; CERDÀ, V. Sequential injection system for on-line analysis of total nitrogen with UV-mineralization. **Talanta,** 59, 319-326, 2003.

24. CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I.G.R. O uso de radiação ultravioleta para o pré-tratamento de amostras em análise inorgânica. **Química Nova**, 26, 913-921, 2003.

25. FALTER, R.; ILGEN, G. Coupling of the RP C18 preconcentration HPLC-UV-PCO-system with atomic fluorescence detection for the determination of methylmercury in sediment and biological tissue. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 358, 407-410, 1997.

26. TSALEV, D.L.; WELZ, M.S. Speciation determination of arsenic in urine by high-performance liquid chromatography–hydride generation atomic absorption spectrometry with on-line ultraviolet photooxidation. **Analyst**, 123, 1703-1710, 1998.

27. BULDINI, P.L.; RICCI, L.; SHARMAC, J.L. Recent applications of sample preparation techniques in food analysis. **Journal of Chromatography A**, 975, 47-70, 2002.

28. CAPELO-MARTÍNEZ, J.L.; XIMÉNEZ-EMBÚN, P.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Advanced oxidation processes for sample treatment in atomic spectrometry, **Trends in Analytical Chemistry**, 23, 331-340, 2004.

29. CHEN, J.N.; CHAN, Y.C.; LU, M.C. Photocalytic oxidation of chlorophenols in the presence of manganese ions. **Water Science Technology**, 39, 225-230, 1999.

30. CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I.G.R. In-line TiO_2-assisted photodigestion of organic matter in aqueous solution for voltammetric flow analysis of heavy metals in water samples. **Analytica Chimica Acta**, 445, 127-138, 2001.

31. YU, H., AI, X., XU, K., ZHENG, C., HOU, X. UV-assisted Fenton digestion of rice for the determination of trace cadmium by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Analyst**, 141, 1512 - 1518, 2016.

32. GUO, X.; STURGEON, R. E.; MESTER, Z.; GARDNER, G. J. UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, 75, 2092-2099, 2003.

33. GUO, X.; STURGEON, R.E.; MESTER, Z.; GARDNER, G.J. Vapor generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spectrometry. **Analytical Chemistry**, 76, 2401-2405, 2004.

34. GRIMBERG, P.; STURGEON, R.E., Photochemical vapor generation of iodine for detection by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 24, 508-514, 2009.

35. STURGEON, R. E. Photochemical vapor generation: a radical approach to analyte introduction for atomic spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 32, 2319-2340, 2017.

36. BENDICHO, C.; PENA, F.; COSTAS, M.; GIL, S.; LAVILLA, I. Photochemistry-based sample treatments as greener approaches for trace-element analysis and speciation. **Trends in Analytical Chemistry**, 29, 681-688, 2010.

37. TAN T.; BEYDOUN, D.; AMAL, R. Effects of organic hole scavengers on the photocatalytic reduction of selenium anion **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 159, 273-280, 2003.

38. FLORIAN, D.; KNAPP, G. High-temperature, microwave-assisted UV-digestion: a promising sample preparation technique for trace element analysis. **Analytical Chemistry**, 73, 1515-1520, 2001.

39. ZHANG, X.; LI, G.; WANG, Y.; QU, J. Microwave electrodeless lamp photolytic degradation of acid orange 7. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 184, 26-33, 2006.

40. KLÁN, P.; LITERÁK, Jr.; HÁJEK, M. The electrodeless discharge lamp: a prospective tool for photochemistry. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 128, 145-149, 1999.

41. MULLER, P.; KLÁN, P.; CÍRKVA, Vr. The electrodeless discharge lamp: a prospective tool for photochemistry: Part 4. Temperature- and envelope material-dependent emission characteristics. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 158, 1-5, 2003.

42. CÍRKVA, Vr.; VLKOVÁ, L.; RELICH, S.; HÁJEK, M. Microwave photochemistry IV: Preparation of the electrodeless discharge lamps for photochemical applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 179, 229-233, 2006.

43. CÍRKA, Vr.; HÁJEK, M. Microwave photochemistry. Photoinitiated radical addition of tetrahydrofuran to perfluorohexylethene under microwave irradiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 123, 21-23, 1999.

44. LITERÁK, Jr.; KLÁN, P. The electrodeless discharge lamp: a prospective tool for photochemistry: Part 2. Scope and limitation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 137, 29-35, 2009.

45. PEREIRA, J.S.F.; PICOLOTO, R.S.; PEREIRA, L.S.F.; GUIMARAES, R.C.L.; GUARNIERI, R.A.; FLORES, E.M.M. High-Efficiency Microwave-Assisted Digestion Combined to in Situ Ultraviolet Radiation for the Determination of Rare Earth Elements by Ultrasonic Nebulization ICP-MS in Crude Oils. **Analytical Chemistry**, 85, 11034-11040, 2013.

46. OLIVEIRA, J.S.; PICOLOTO, R.S.; BIZZI, C.A.; MELLO, P.A.; BARIN, J.S.; FLORES, E.M.M. Microwave-assisted ultraviolet digestion of petroleum coke for the simultaneous determination of nickel, vanadium and sulfur by ICP-OES. **Talanta**, 144, 1052-1058, 2015.

47. SOUZA, J.P.; BARELA, P.S.; KELLERMANN, K.; SANTOS, M.F.P.; MORAES, D.P.; PEREIRA, J.S.F. Microwave-assisted ultraviolet digestion: an efficient method for the digestion of produced water from crude oil extraction and further metal determination. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 32, 2439-2446, 2017.

48. BARELA, P.S.; SOUZA, J.P.; PEREIRA, J.S.F.; MARQUES, C.; MÜLLER, E.I.; MORAES, D.P. Development of a microwave-assisted ultraviolet digestion method for biodiesel and subsequent trace elements determination by SF-ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 33, 1049-1056, 2018.

49. HARTWIG, C.A.; PEREIRA, R.M.; NOVO, D.L.R.; OLIVEIRA, D.T.T.; MESKO, M.F. Green and efficient sample preparation method for the determination of catalyst residues in margarine by ICP-MS. **Talanta**, 174, 394-400, 2017.

50. HARTWIG, C.A.; PEREIRA, R.M.; RONDAN, F.S.; CRUZ, S.M.; DUARTE, F.A.; FLORES, E.M.M.; MESKO, M.F. The synergic effect of microwave and ultraviolet radiation for chocolate digestion and further determination of As, Cd, Ni and Pb by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 31, 523-530, 2016.

51. LIMBECK, A. Microwave-assisted UV-digestion procedure for the accurate determination of Pd in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, 575, 114-119, 2006.

52. DASH, K.; RASTOGI, L.; ARUNACHALAM, J. DNA quantification via traceable phosphorus measurement through microwave-assisted UV digestion-ion chromatography. **Analyst**, 137, 668-674, 2012.

53. MESKO, M.F.; PICOLOTO, R.S.; FERREIRA, L.R.; COSTA, V.C.; PEREIRA, C.M.P.; COLEPILOTO, P.; MULLER, E.I.; FLORES, E.M.M. Ultraviolet radiation combined with microwave-assisted wet digestion of Antarctic seaweeds for further determination of toxic elements by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 260-266, 2015.

54. HORIKOSHI, S.; HIDAKA, H.; SERPONE, N. Environmental remediation by an integrated microwave/UV-illumination method II. Characteristics of a novel UV-Vis-microwave integrated irradiation device in photodegradation process. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: chemistry**, 153, 185-189, 2002.

Capítulo 13

PREPARO DE AMOSTRAS PARA ESPECIAÇÃO QUÍMICA

Paola de Azevedo Mello
Fábio Andrei Duarte
Márcia Foster Mesko
Ana Rita de Araujo Nogueira
Érico Marlon de Moraes Flores

13.1. ESPECIAÇÃO QUÍMICA

Se a etapa de preparo de amostras já é considerada uma das mais complexas da sequência analítica, a necessidade de garantir a estabilidade das espécies químicas pode torná-la ainda mais crítica. O fato de diversas espécies de um mesmo elemento, como por exemplo, Cr(III) e Cr(VI), Hg^{2+} e H_3CHg^+, apresentarem propriedades físico-químicas e toxicidade distintas requer não somente a determinação da concentração total dos elementos mas, também, a identificação e quantificação das espécies.

Vários fatores justificam a necessidade da análise de especiação, principalmente o impacto das espécies sobre a saúde humana que, para diversos elementos, vai da toxicidade à essencialidade. Alguns elementos apresentam-se majoritariamente como espécies inorgânicas, variando apenas seu estado de oxidação. Por exemplo, o Cr(III) é considerado essencial ao metabolismo humano até certas concentrações, enquanto o Cr(VI) é tóxico, mesmo em baixas concentrações. Outros apresentam-se, comumente, tanto na forma orgânica quanto na forma inorgânica, podendo predominar em uma dada forma, dependendo dos processos que levam a sua formação. São exemplos, o As e o Hg, que existem tanto como espécies inorgânicas com estados de oxidação distintos (Hg^0 e Hg^{2+}, As(III) e As(V)) quanto na forma orgânica (H_3CHg^+, $(H_3C)_2Hg$, monometilarsênio - MMA e dimetilarsênio - DMA).[1,2] A toxicidade depende da espécie e, enquanto as formas orgânicas são as mais tóxicas para alguns elementos (por exemplo, Hg) outros podem apresentar maior toxicidade para as formas inorgânicas (por exemplo, As). Além disso, muitas macromoléculas contendo metais são também encontradas, como é o caso das metaloenzimas e metaloproteínas, arsenolipídeos e arsenoaçúcares.[1-9]

Nos últimos anos, aliando os avanços na instrumentação para a quantificação de espécies em concentrações cada vez mais baixas e o desenvolvimento de alternativas para acoplamento de técnicas de separação e detecção, foi desenvolvido um número significativo de métodos para análise de especiação.[10,11] Entretanto, as limitações ainda existem e deve ser dada atenção especial à etapa de preparo da amostra, uma vez que é nela que a estabilidade das espécies está mais ameaçada. Geralmente, no preparo de amostras se faz uso de reagentes químicos com aquecimento, em condições nem sempre adequadas para um número significativo de

espécies. Com base nestas premissas, neste capítulo serão abordados os métodos de preparo de amostras com vistas à análise de especiação, com ênfase àqueles que tratam de espécies metálicas, inorgânicas ou organometálicas. Moléculas orgânicas contendo apenas não metais (por exemplo, hidrocarbonetos e moléculas orgânicas em que o heteroátomo seja N, S ou O) não serão consideradas.

13.1.1. Definições

O termo "especiação" tem sido utilizado em diversas áreas, algumas vezes de modo genérico. Porém, em alguns casos, não se refere especificamente à atividade de identificação das espécies químicas e/ou sua distribuição para um dado elemento. Frequentemente, a palavra "espécies" é utilizada para denominar as diversas formas em que um elemento se encontra, seja em termos de estado de oxidação ou da estrutura molecular. Entretanto, o uso deste termo nem sempre é apropriado ou claramente definido.[1,12]

No sentido de uniformizar os conceitos acerca do tema, a União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry*, IUPAC)[11] define termos relacionados à especiação, preconizando o uso deste termo como sinônimo de distribuição de espécies.[12,13] Segundo a IUPAC, "espécie química" é a forma específica de um elemento, definida em relação à composição isotópica, ao estado eletrônico ou de oxidação e/ou à estrutura molecular ou complexo. Sob estes aspectos, a "análise de especiação" pode ser definida como a atividade analítica para identificar e/ou determinar as quantidades de uma ou mais espécies em uma amostra.[12-14]

O termo "fracionamento" é claramente distinto do conceito de especiação e entende-se pelo processo de classificação de um analito ou grupo de analitos de uma dada amostra, de acordo com suas propriedades físicas (por exemplo, tamanho ou solubilidade) ou químicas (por exemplo, ligações e reatividade).[1,11] Para o propósito deste capítulo é importante salientar que serão discutidos os aspectos gerais, os métodos e suas respectivas aplicações para análise de especiação de metais, não sendo, portanto, abordados os métodos para fracionamento, os quais podem ser consultados em literatura específica.[1,12,15-21]

13.1.2. Aspectos gerais da análise de especiação

Para um dado sistema em estudo, se um elemento está presente em diferentes formas, a análise de especiação passa a ser primordial para sua compreensão. Este entendimento envolve o conhecimento das espécies, de suas concentrações, suas estabilidades, transformações e interações. Na prática, a especiação com o objetivo de determinar todas as espécies, estabelecendo o balanço de massa de todas as formas do elemento, pode ser considerada impraticável, até o momento, do ponto de vista analítico.[1,22] Isto decorre da exigência de estabelecer um protocolo, desde o preparo até a medição, que seja capaz de garantir a estabilidade de todas as espécies, além de identificá-las e quantificá-las. Assim, a relevância das espécies depende da importância de cada uma para a compreensão do sistema em estudo e, sobretudo, está limitada à habilidade do método analítico em distinguir tais espécies, conservá-las, detectá-las e, por fim, quantificá-las.

Todas essas particularidades exigem do analista uma definição no planejamento da análise, levando em conta os seguintes questionamentos:

- ✓ qual(is) analito(s)?
- ✓ é necessária a identificação e quantificação de todas as espécies?
- ✓ qual a estabilidade, solubilidade, polaridade e volatilidade das espécies?
- ✓ como amostrar e armazenar sem que ocorra a conversão das espécies?
- ✓ quais condições podem ser utilizadas no preparo de amostras (reagentes, temperatura, entre outros) sem causar perda ou comprometer a estabilidade das espécies?
- ✓ um único método será adequado para todas as espécies em estudo?
- ✓ como determinar a concentração das espécies isoladamente?
- ✓ quais são os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) requeridos?
- ✓ como fazer a calibração, garantindo a resposta para todas as espécies, levando em conta que são poucos os padrões disponíveis para espécies químicas?
- ✓ como avaliar a exatidão do método, dada a carência de materiais de referência certificados para espécies químicas e de métodos de referência para a análise de especiação?

A partir da compreensão do sistema e da identificação das espécies importantes, a análise de especiação poderá ser pensada e executada, primando

pelos parâmetros de mérito essenciais ao rigor analítico. A partir da Figura 13.1 é possível estabelecer uma comparação entre a sequência analítica visando à determinação da concentração total de um dado elemento e aquela necessária à análise de especiação.

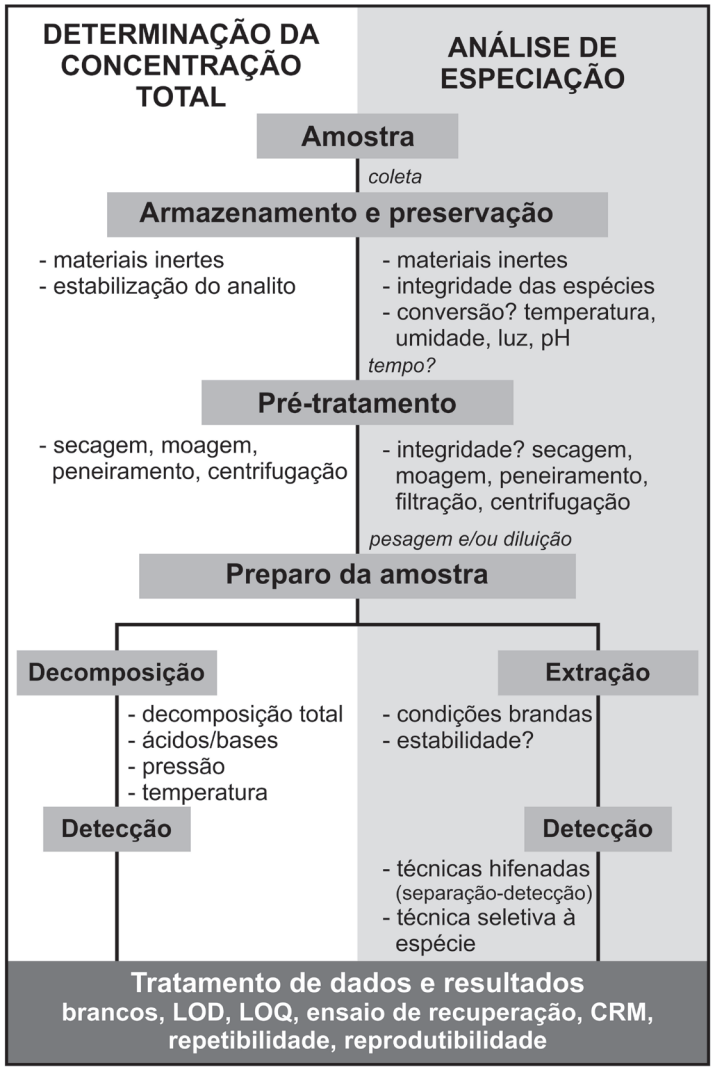

Figura 13.1. Particularidades da sequência analítica em métodos para a determinação da concentração total e para a análise de especiação.

Pode-se observar que diversas particularidades estão presentes em todas as etapas, da coleta à detecção, uma vez que a possibilidade de conversão ou perda de espécie coloca em risco a confiabilidade da análise de especiação. Sobretudo, é possível considerar que é na etapa de preparo que há maior risco de conversão, uma

vez que são utilizados reagentes químicos e, em diversos casos, aquecimento. Essas práticas são críticas, pois podem levar à perda de espécies voláteis, interconversão de espécies e, até mesmo, formação de espécies que não estavam presentes originalmente na amostra.[3]

Assim, para que se possa propor um procedimento analítico adequado à análise de especiação, é necessário: definir quais são as espécies (analitos); garantir as condições para sua estabilidade até a etapa de medição; utilizar condições de pré-tratamento que não ofereçam risco à sua integridade; utilizar condições brandas no preparo da amostra (a ponto de evitar conversões) e utilizar uma técnica analítica que responda seletivamente à(s) espécie(s) ou fazer uso de um método de separação acoplado à técnica de detecção, o que constitui o universo das técnicas hifenadas.

Para a seleção das espécies relevantes em um dado estudo, o ponto de partida é conhecer quais espécies são comumente encontradas na amostra em questão. Em alguns casos, esta informação é desconhecida, pois há um grande número de amostras jamais investigadas em análise de especiação, assim como há elementos com poucas informações acerca das espécies naturalmente presentes. Outro aspecto a ser considerado é que, enquanto a concentração total deve ser estática, a concentração das espécies pode ser dinâmica em um dado ambiente ou organismo. Na Tabela 13.1 estão compiladas as principais espécies já estudadas e reconhecidamente presentes em certos tipos de amostra.

O conjunto de possibilidades analíticas é amplo e dependerá, sobretudo, do elemento e de suas espécies, da matriz e do LOD e LOQ almejados. Com base nesse conjunto de exigências, a abordagem mais prática é selecionar um conjunto de condições experimentais de modo a garantir a estabilidade para um grupo de espécies, sendo que as demais espécies podem ser submetidas à análise de especiação empregando um método com condições distintas.[2]

Uma das principais barreiras na análise multiespécies é a diferença de comportamento entre elas, principalmente em termos de polaridade, solubilidade e estabilidade. As diferenças nas propriedades físico-químicas fazem com que as espécies nem sempre respondam da mesma maneira ao método analítico. Por exemplo, ao considerar a escolha de um adsorvente para separação de espécies da matriz, a diferença de polaridade entre as espécies pode ser decisiva e, caso seja muito pronunciada, poderá não resultar na recuperação completa de todas as espécies com

o emprego de apenas um adsorvente. Da mesma forma, se houver interesse em espécies com polaridades distintas, misturas de solventes precisam ser usadas para

Tabela 13.1. Espécies químicas mais comumente relatadas em estudos de análise de especiação.

Elemento	Tipo de amostra	Espécies
As	alimentos[10,23-29]	iAs, MMA, DMA, TMA
	ambientais[23,27-37]	iAs, MMA, DMA, TMA
	materiais biológicos[10,23,27-30,32,35]	iAs, MMA, DMA, AsB
	organismos marinhos[4,9,10,23,27-30]	AsB, AsC, MMA, DMA, TMA, TMAO, As-lipídeos
Cr	ambientais[23,31,32,36-38]	Cr(III), Cr(VI)
Fe	ambientais[12,24,32,39]	Fe(II), Fe(III)
	materiais biológicos[32,39]	Fe(II), Fe(III)
Hg	ambientais[5,10,19,31-33,35,39-41]	H_3CHg^+, $(H_3C)_2Hg$, Hg^{2+}
	alimentos[5,10,23,42]	H_3CHg^+, Hg^{2+}
	geológicas[5,19,32]	H_3CHg^+, $(H_3C)_2Hg$, Hg^{2+}
	materiais biológicos[5,10,23,31,33,35,39,42]	H_3CHg^+, $(H_3C)_2Hg$, Hg^{2+}
	organismos marinhos[5,10,23,42,43]	H_3CHg^+
Se	ambientais[10,23,31-33,35,36,44]	Se(IV), Se(VI), SeCys, SeMet
	alimentos[12,35]	Se(VI), SeCys, SeMet
	materiais biológicos[12,24,32,34]	Se(IV), Se(VI), SeCys, SeMet
Sb	ambientais[12,24,32-34,37,38,45]	Sb(III), Sb(V)
	fármacos[45-47]	Sb(III), Sb(V)
	materiais biológicos[10,23-48]	Sb(III), Sb(V)
Sn	ambientais[24,32-34,36,37,42]	TBT, DBT, TPhT
	materiais biológicos[32-34,36]	TBT, TPhT
V	ambientais[31,32,36,49]	V(IV), V(V)
	materiais biológicos[10,49]	V(IV), V(V)
Biomoléculas		
Metaloproteínas	materiais biológicos[50-51]	Cd, Pb, Zn
Fitoquelatinas	ambientais[9,52]	Cd, Co, Cu, Zn
Polissacarídeos	materiais biológicos[9,53]	As, Pb, Sr
Substâncias húmicas	ambientais[54]	Cd, Ni, Pb, Zn

AsB, arsenobetaína; AsC, arsenocolina; As-lipídeos, arsenolipídeos; DMA, dimetilarsênio; arsênio inorgânico, iAs = As(III) + As(V); MMA, monometilarsênio; TMA, íon tetrametilarsônio; TMAO, óxido de trimetilarsina; H_3CHg^+, metilmercúrio; $(H_3C)_2Hg$, dimetilmercúrio; SeCys, selenocisteína; SeMet, selenometionina; DBT, dibutilestanho; TBT, tributilestanho; TPhT, trifenilestanho.

garantir a solubilização de todas as espécies, ou parte não será identificada e quantificada. Outro aspecto refere-se à volatilidade, que afeta a seleção das temperaturas de armazenamento, pré-tratamento e preparo das amostras. A temperatura de ebulição de espécies de um mesmo elemento é, em alguns casos, bastante distinta, como é o caso do Hg^0, Hg^{2+} e H_3CHg^+, o que requer a seleção da temperatura adequada em função da espécie de interesse. Caso as condições para manutenção da integridade das espécies não tenham sido respeitadas, podem ocorrer transformações, tais como oxidação e quebra de ligações químicas, além de perda ou recuperação incompleta das espécies, levando a resultados super ou subestimados.[2]

13.1.3. Integridade das espécies: estabilidade desde a amostragem até a detecção

Idealmente, a análise de especiação deveria permitir a determinação de todas as espécies, de todos os elementos simultaneamente, com a mesma estratégia para extração, instrumentação e detecção. Contudo, em muitos casos, as condições necessárias para garantir a exatidão e a precisão para um conjunto de espécies comprometem os resultados para outras.[1]

A estabilidade das espécies é um fator crucial na escolha do método, uma vez que os reagentes e a temperatura, por exemplo, precisam ser adequados para garantir a integridade das espécies sob investigação. Isso torna a análise multiespécies possível somente para conjuntos de espécies com propriedades similares. Todas as demais espécies, que não tenham tido as condições selecionadas de modo a ter sua estabilidade garantida, não estão incluídas.[1] Como exemplo, algumas condições críticas são apresentadas na Tabela 13.2.

Dentre outros fatores, a estabilidade das espécies depende de parâmetros físico-químicos, tais como a temperatura, a umidade, a incidência de radiação ultravioleta e o teor de matéria orgânica, podendo sofrer influência da matriz.[2]

O armazenamento das amostras normalmente é necessário, pois na maioria dos casos não é possível a realização das análises nos locais das coletas. Longos tempos de armazenagem podem ser requeridos para que todas as análises necessárias sejam feitas.[55] Durante o manuseio e armazenamento, métodos adequados para a limpeza dos frascos e outros equipamentos devem ser utilizados para evitar a contaminação das amostras. Uma das recomendações é que o armazenamento seja

Tabela 13.2. Condições experimentais críticas para a análise de especiação multiespécies e para a integridade das espécies de alguns elementos.

Condições experimentais	Problemas	Exemplos
Reagentes	oxidação mediante uso de ácidos oxidantes[1,4,28,37]	As(III) e As(V) Se(IV) e Se(VI)
pH	espécies que sofrem equilíbrio ácido-base são suscetíveis a mudança no pH do meio[4,10,28,37,56], incluindo complexos metálicos[41,57]	As(III) e As(V) Cr(III) e Cr(VI) TBT e DBT Cr(III)-EDTA
Temperatura	algumas espécies organometálicas ou elementares são voláteis, podendo ser perdidas sob aquecimento ou em sistemas abertos[1,57,58]	H_3CHg^+, Hg^0
	espécies podem ser convertidas por degradação ou eliminação de grupamentos orgânicos[1,30]	TBT e DBT MMA e DMA
Solubilidade	espécies organometálicas e macromoléculas orgânicas ligadas a metais apresentam solubilidade limitada em água, o que requer estudo do solvente extrator adequado[28,30,56]	As(III), As(V) e AsB solúveis em água e As-açúcares e As-lipídeos solúveis em hexano, metanol, clorofórmio e misturas; DBT e TBT solúveis em hexano, tolueno e diclorometano

AsB, arsenobetaína; MMA, monometilarsênio; DMA, dimetilarsênio; DBT, dibutilestanho; TBT, tributilestanho.

feito por um curto período de tempo e a 4 °C. Se for necessário estocar por maior tempo, as amostras devem ser liofilizadas e armazenadas a -80 °C.[55,59]

Há casos em que métodos considerados brandos na etapa de pré-tratamento, resultam em perdas. A análise de especiação de Hg é um dos casos críticos e apresenta diversas contradições. Temperaturas de secagem relativamente baixas e curtos períodos de armazenamento (40 °C, 48 h) são recomendados na etapa de pré-tratamento, como forma de evitar perdas e interconversões, sendo relatadas, inclusive, perdas no processo de liofilização.[58] Em contrapartida, em um estudo recente, que envolveu seis espécies de peixes, foi demonstrado que não ocorrem perdas por meio da secagem, em temperaturas de até 100 °C ou por liofilização.[60] No mesmo estudo, foi demonstrada a conversão de H_3CHg^+ a Hg^{2+} em temperaturas a partir de 125 °C.[60] Esse exemplo demonstra o quão crítica pode ser a condição experimental usada na análise de especiação. Além disso, como ambos os estudos tratam de espécies de Hg em peixes,[58,60] ressalta-se a necessidade de uma avaliação do comportamento de cada espécie nas amostras sob investigação.

Enfim, as condições experimentais podem ser escolhidas com base nas diferenças de propriedades físico-químicas de modo a assegurar a integridade das espécies, desde a coleta até a detecção. O analista deve ter em mente que a presença da espécie na amostra é fruto das condições de equilíbrio em que a espécie se encontra. Portanto, qualquer mudança nessa condição poderá provocar a desestabilização da espécie, comprometendo o resultado final. Garantidas as condições de preparo de amostra adequadas, a detecção pode ser avaliada em função das espécies e de sua concentração.

13.1.4. Instrumentação para detecção na análise de especiação

Avanços na instrumentação dos métodos espectrométricos, tais como a espectrometria de absorção atômica (*atomic absorption spectrometry*, AAS), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (*inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, ICP OES) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (*inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS), têm sido cruciais para a evolução dos métodos de especiação.[10,11,54] Ao mesmo tempo que tais métodos são suficientes para os LODs exigidos para poluentes ambientais, muitas vezes não são adequados a outras finalidades, principalmente no contexto das espécies tóxicas aos organismos. Em diversas situações, isto requer o uso de técnicas de elevada sensibilidade, como a ICP-MS, ou de métodos de pré-concentração. Particularmente, com o aumento de aplicações de nanomateriais baseados em metais, torna-se cada vez mais necessaria a avaliação de seu impacto ambiental e biológico. Para tornar possível a distinção entre as nanoparticulas dissolvidas na fração iônica ou a forma de ligação dos metais em estudos de toxicidade, procedimentos que utilizam técnicas complementares (ex. técnicas moleculares e elementares, espectrometria de massa e técnicas baseadas em raios-X) foram propostos.[61]

É preciso considerar que as duas principais características de uma ferramenta analítica para a análise de especiação são a boa seletividade e a alta sensibilidade.[62] Para atender essas necessidades, mesmo que em concentrações extremamente baixas, precisam ser usadas técnicas que permitam a detecção com resposta seletiva a cada espécie. Alternativamente, técnicas com resposta não específica, acopladas a um método de separação, normalmente conhecidas como técnicas hifenadas, permitem

a análise de especiação de um grande número de espécies de diversos elementos, desde que precedidas por um método adequado de preparo de amostras.[9,11,35,39,54,63-73]

Dentre os métodos de separação, os métodos instrumentais, como a cromatografia a gás (*gas chromatography*, GC), a cromatografia a líquido (*liquid chromatography*, LC) e a eletroforese capilar (*capillary electrophoresis*, CE) são ferramentas úteis.[11,70] Além desses, vêm sendo usados métodos não cromatográficos e eletroforéticos,[23,74] por meio de estratégias simples baseadas na reatividade e/ou afinidade química, como a geração química de vapor (*chemical vapor generation*, CVG), a extração em fase sólida (*solid phase extraction*, SPE), a coprecipitação, a especiação redox, bem como outros métodos de separação, como a destilação e o aprisionamento criogênico. Tais métodos podem ser acoplados às técnicas de detecção com resposta não específica, tais como a AAS, ICP OES e ICP-MS, compondo uma estratégia para a análise de especiação pela defasagem temporal na medição de cada espécie.[62]

Nesse contexto, as técnicas de separação hifenadas à ICP-MS tem sido consideradas as ferramentas mais eficazes e versáteis para a análise de especiação, em função de sua característica multielementar, ampla faixa linear de trabalho e capacidade para análise isotópica, além da adequabilidade das técnicas com plasma para acoplamento com os métodos cromatográficos de baixa vazão e baixo volume de eluente.[9,35,39,54,63-69] Entretanto, cabe ressaltar que, embora alguns acoplamentos estejam comercialmente disponíveis, tal como a cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (LC-ICP-MS), outros precisam de desenvolvimentos mais específicos. Como exemplo de acoplamento, na Figura 13.2 é apresentado um cromatograma típico obtido para a separação e detecção de espécies de As. Nesse caso, o acoplamento foi feito utilizando a cromatografia a líquido com geração química de vapor (CVG) acoplada à ICP-MS (LC-CVG-ICP-MS). Por meio deste acoplamento, espécies de As separadas na coluna são transferidas para um sistema CVG e transportadas para a detecção por ICP-MS.

Alguns fatores necessitam da atenção do analista no que diz respeito à técnica de detecção, tais como: (*i*) a resposta analítica é a mesma para todas as formas do elemento? (*ii*) o acoplamento afeta a resposta analítica? (*iii*) há risco de conversão ou degradação da espécie durante a separação?

Em relação à resposta do detector em função da espécie, é importante levar em conta o princípio que rege a determinação e se a resposta é molecular ou ele-

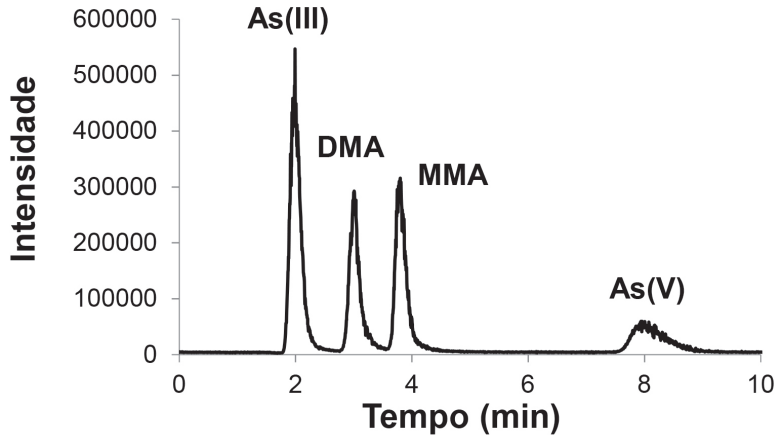

Figura 13.2. Cromatograma obtido por LC-CVG-ICP-MS para espécies de As (10 µg L^{-1} As para cada espécie). Condições experimentais: (i) separação cromatográfica utilizando 6 mmol L^{-1} $(NH_4)_2HPO_4$ como fase móvel, pH 6, vazão 1,25 mL min^{-1}, injeção de 200 µL; (ii) CVG utilizando 1% (m/v) $NaBH_4$ em 0,1% (m/v) NaOH; (iii) para o instrumento de ICP-MS a potência foi de 1400 W e as vazões de Ar foram 15, 1,2 e 1,15 L min^{-1} para os gases de nebulização, auxiliar e principal, respectivamente.

mentar. Por exemplo, espera-se que a resposta para cloro, em ICP-MS, seja a mesma para cloreto ou clorato. Assim, desde que a concentração de cloro seja idêntica, deve ser obtida a mesma resposta analítica, que se dará em função da separação do íon Cl^+ no espectrômetro (m/z = 35), em ambos os casos. Em contrapartida, para um detector condutométrico acoplado à cromatografia de íons, deverão ser observadas respostas diferentes.[75] O uso de técnicas de resposta não específica nas hifenações (*i.e.* com resposta independente da espécie química) permite a calibração com uma única espécie. Isso é vantajoso, uma vez que a inexistência de padrões para todas as espécies é uma das limitações mais comuns. Com isso, mesmo que a estrutura de todas as espécies separadas não seja conhecida, sabe-se que há uma espécie desconhecida para um dado elemento e qual fração da concentração total deste elemento a dada espécie representa.[75]

Nos casos em que o detector não é capaz de fornecer uma resposta para a espécie ou em que sua resposta seja pouco intensa, podem ser utilizadas estratégias de derivatização, as quais podem acontecer antes da etapa de detecção, previamente ou após a coluna de separação. Para elementos formadores de hidretos (As, Bi, Cd, Ge, Pb, Sb, Se, Sn e Te), a derivatização utilizando a CVG (ou simplesmente geração de hidretos, HG) pode ser uma estratégia para a análise de especiação. Assim, a CVG pode ser uma alternativa para análise de especiação utilizando a AAS ou

a espectrometria de fluorescência atômica (*atomic fluorescence spectrometry*, AFS), fornecendo baixos limites de detecção para espécies de relevância ambiental e biológica.[76-78] Além disso, a CVG pode ser utilizada como estratégia de derivatização pós-coluna no acoplamento LC-CVG-ICP-MS, melhorando os limites de detecção e promovendo a separação analito-matriz. Se a hifenação envolver o uso da GC e a espécie não atingir os pré-requisitos de volatilidade e estabilidade, é preciso converter a espécie a uma forma volátil. Isso pode ser feito por meio da derivatização via alquilação, com reagentes como $NaBEt_4$ ou por reações de Grignard.[79]

Para avaliar se o acoplamento está afetando a resposta e se há eventual degradação, conversão ou perda de alguma espécie química, algumas precauções para o controle de qualidade e garantia da qualidade podem ser úteis. Parâmetros essenciais ao método analítico devem ser avaliados, tais como ensaios com materiais de referência certificados (CRM), com amostras de controle e comparação de resultados por métodos independentes. No caso de métodos de especiação, esses parâmetros são considerados primordiais, haja vista o risco sempre presente de comprometer a integridade das espécies. Entretanto, a carência de padrões para a maioria das espécies e, mais ainda, de CRMs para espécies químicas, e não somente para a concentração total de um dado elemento, impedem que essas estratégias sejam adotadas, tornando a garantia e o controle de qualidade em métodos de análise de especiação um grande desafio.[80]

Outro aspecto importante refere-se ao balanço de massa das espécies em um método de especiação. É preciso considerar que a concentração total do elemento é dada pela soma das concentrações das espécies químicas individuais em que este se distribui em uma dada amostra. Em termos práticos, se a soma das espécies não corresponde à concentração total determinada, há um indicativo de que estejam ocorrendo conversões ou perdas nas condições utilizadas ou de que nem todas as espécies estão sendo detectadas. Sobretudo, se alguma espécie no método é calculada por diferença, erros na determinação individual de uma espécie comprometem a exatidão dos resultados.[80]

A seguir, serão apresentados e discutidos os métodos possíveis para o preparo de amostras e suas particularidades do ponto de vista da análise de especiação.

13.2. MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO

Os métodos de preparo de amostra para análise de especiação, diferentemente daqueles empregados para a determinação da concentração total de um elemento, devem obedecer alguns pré-requisitos, os quais são extremamente dependentes do estado físico da amostra (sólido, líquido ou gás). Dentre os tipos de amostras submetidas ao preparo para análise de especiação, as sólidas têm destaque especial. A variabilidade na composição deste tipo de matriz geralmente requer um ajuste das condições de extração para cada situação. Existem casos em que a composição, em termos de espécies químicas, é pouco conhecida. Assim, é recomendado o emprego de extrações seletivas, variando o tipo de solvente como, por exemplo, misturas água/metanol para espécies hidrofílicas ou misturas metanol/clorofórmio para espécies lipofílicas.

Para avaliar a eficiência de uma extração é recomendado fazer uma comparação do somatório da concentração das espécies no extrato com a concentração total do analito, sendo a determinação da concentração total geralmente feita após submeter a amostra a algum método de decomposição (ver Capítulo 9).

A avaliação da eficiência de extração não é uma tarefa fácil, pois além de extrações não quantitativas, pode ocorrer, por exemplo, retenção irreversível do analito na coluna cromatográfica. De maneira geral, a avaliação da eficiência de extração pode ser feita conforme a equação 1:

$$EE(\%) = \frac{C_E}{C_D} \times 100 \qquad (1)$$

onde, *EE* corresponde à eficiência de extração percentual, C_E corresponde à concentração total do analito no extrato e C_D corresponde à concentração total do analito no digerido.

Para a obtenção do valor de C_E, a amostra deve ser submetida ao método de extração escolhido e o extrato deve ser analisado quanto à concentração total do analito, independente das espécies presentes. A determinação da concentração total pode ser feita diretamente no extrato ou, caso o analito seja susceptível à interferências pela técnica de determinação, é recomendada a decomposição prévia do extrato, conforme discutido nos capítulos anteriores deste livro. Para a obtenção do valor

de C_D, a amostra sólida deve ser submetida a um procedimento de decomposição, seguido da determinação da concentração total do analito pela técnica analítica mais adequada. Cabe destacar que, a partir da avaliação da eficiência de extração, é possível saber apenas se a extração é quantitativa; problemas relacionados à interconversão de espécies não são considerados, porém devem ser investigados durante o desenvolvimento do método.

Tendo em vista que grande parte dos métodos mais atuais para análise de especiação envolve o uso de técnicas hifenadas (sistema de separação + sistema de detecção), é imprescindível avaliar um parâmetro conhecido como recuperação cromatográfica para avaliar a influência do método de separação na análise de especiação. De maneira geral, a avaliação da recuperação cromatográfica pode ser feita conforme a equação 2:

$$RC(\%) = \frac{(C_1 + C_2 + C_3 + ...)}{C_E} \times 100 \quad (2)$$

onde, *RC* corresponde à recuperação cromatográfica percentual, C_E corresponde à concentração total do analito no extrato (a mesma descrita na equação 1) e C_1, C_2, C_3 correspondem à concentração de cada espécie no extrato.

A baixa recuperação cromatográfica está diretamente associada à escolha inadequada da coluna e/ou do solvente de eluição, pois algumas espécies podem ficar retidas na coluna irreversivelmente. Assim, é necessário que estas duas variáveis sejam investigadas, visando ao aumento na eficiência de extração. Outra possibilidade é que algumas espécies não sejam detectadas nas condições instrumentais utilizadas.

Combinando os dois parâmetros discutidos anteriormente (EE e RC), é possível estabelecer um conceito geral para representar a eficiência de um método de análise de especiação, conhecido como balanço de massa. Esse parâmetro é considerado adequado quando EE e RC são elevados (por exemplo, superior a 90%), desde que respeitadas as peculiaridades de cada situação. Por exemplo, se a EE for 80% e a RC for 85%, a recuperação total (ou balanço de massa) será de apenas 68%. Ou seja, apenas 68% da concentração total do analito será detectada na forma de espécies. Considerando estes aspectos, tanto o método de extração quanto a forma de separação cromatográfica (tipo de fase móvel e fase estacionária) devem ser ajustados.[81]

A análise de especiação em amostras líquidas e gasosas requer, na maioria dos casos, menos etapas de pré-tratamento quando comparadas com aquelas requeridas para amostras sólidas. Para amostras líquidas, é necessário um cuidado especial quanto à presença de material particulado, pois algumas espécies podem ficar adsorvidas no sólido e, portanto, não serem determinadas. Nestas situações, pode ser feita a separação das fases por filtração ou centrifugação, e a determinação da concentração total do analito nas frações líquida e sólida. Caso o analito seja detectado na fração sólida, é necessário executar a análise de especiação nesta fração, complementando os resultados obtidos para a fração líquida.[82,83] Maiores detalhes sobre os métodos de preparo para amostras líquidas serão descritos posteriormente.

De maneira similar, a análise de amostras gasosas também requer cuidados quanto à presença de material particulado (geralmente expresso como PM_{10} ou $PM_{2,5}$, onde o número subscrito corresponde ao tamanho da partícula, em micrometros). Para a análise de espécies em fase gasosa, uma das principais formas de preparo da amostra é o aprisionamento criogênico, o qual pode ser empregado para espécies naturalmente voláteis (por exemplo, espécies orgânicas de Sn) ou volatilizáveis (espécies de As após reação com $NaBH_4$).[84] Alternativamente, também podem ser utilizadas soluções absorvedoras ou adsorventes sólidos, porém ambas as alternativas apresentam muitas variáveis a serem ajustadas, como a solubilidade da espécie na solução e a seletividade do adsorvente. Cabe destacar que quando são empregados adsorventes ou aprisionamento criogênico, é necessário garantir a completa liberação do analito para separação e/ou detecção, mantendo a integridade das espécies.[84,85]

Deve ser enfatizado que quando amostras líquidas ou gasosas possuírem material sólido, será necessário considerar os aspectos discutidos anteriormente (levando em conta o balanço de massa) para extração de espécies a partir de matrizes sólidas. Devido à diversidade de possibilidades de execução da análise de especiação nas mais variadas matrizes e analitos, muitos métodos de preparo de amostra têm sido relatados na literatura e os principais serão descritos a seguir.

13.2.1. Considerações gerais sobre a extração de espécies de amostras sólidas

Os métodos de extração de espécies de amostras sólidas são baseados na dessorção, solvatação e difusão do analito da matriz, permitindo a transferência para

a fase líquida. O solvente extrator é selecionado em função das características da matriz e das espécies a serem extraídas. Em muitos casos, podem ser usados ácidos diluídos, como ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácidos carboxílicos ou solventes orgânicos tais como metanol, etanol, diclorometano ou hexano. Alguns casos específicos são bem descritos na literatura como, por exemplo, *i*) mistura de metanol e água para extração de espécies de As; *ii*) metanol e ácido acético para espécies orgânicas de Sn e *iii*) para espécies de Hg (principalmente Hg^{2+} e CH_3Hg^+) podem ser usados diferentes solventes como, hidróxido de sódio ou potássio em metanol, hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e ácido clorídrico ou acético combinados a metanol ou tolueno. Outra opção muito comum é a extração enzimática, empregando principalmente proteases, lipases, tripsina, pepsina ou misturas destas.[18,86]

Apesar da extração sólido-líquido poder ser feita sem qualquer ação externa (por exemplo, agitação, temperatura ou pressão), a eficiência de extração tende a ser baixa e os tempos de extração tendem a ser longos (muitas horas) sem o uso de alguma ação externa. Cabe salientar que tempos de extração elevados podem aumentar o risco de degradação e interconversão das espécies, bem como de perdas e/ou contaminação. Assim, apesar da relativa boa eficiência da extração sólido-líquido convencional com agitação mecânica ou magnética, diversas alternativas têm sido propostas, tais como, extração assistida por micro-ondas (*microwave-assisted extraction*, MAE), extração assistida por ultrassom (*ultrasound-assisted extraction*, UAE), extração acelerada por solvente (*accelerated solvent extraction*, ASE) e extração com fluído supercrítico (*supercritical fluid extraction*, SFE), visando a aumentar a eficiência, reduzir o tempo e aumentar a massa de amostra, entre outros fatores.[86]

13.2.2. Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido (*liquid-liquid extraction*, LLE) é fundamentada na partição de analitos orgânicos e inorgânicos de matrizes variadas para um solvente imiscível, sendo um dos métodos mais antigos e mais empregados para o preparo de amostras líquidas. A LLE é baseada na solubilidade relativa do analito em duas fases imiscíveis, com transferência deste, geralmente, para um menor volume de solvente, proporcionando a pré-concentração e minimizando interferências. Essa solubilidade relativa está relacionada ao coeficiente de partição (K) do analito entre os dois solventes (orgânico e aquoso). Como nem sempre todo analito é transferido

para a fase orgânica em uma única extração (baixo valor de K), é necessário um maior número de extrações para que a eficiência seja satisfatória. Os métodos que possuem essa característica são conhecidos como métodos exaustivos.[86,87]

A extração e a pré-concentração de espécies químicas empregando a LLE é feita convencionalmente pela derivatização (ou complexação) do analito em um meio tamponado, seguida da extração dos analitos em uma fase orgânica. Como mencionado anteriormente, o uso de derivatizantes muitas vezes é essencial para garantir a eficiência dos métodos de extração em fase líquida. De maneira geral, os agentes complexantes são compostos orgânicos com grupamentos nitrogenados (aminas, amidas e nitrilas), oxigenados (grupos éter, carboxílicos e hidroxila) ou sulfurados (tióis e tiocarbamatos), além de reagentes de Grignard e tetra-alquilboratos. Para extração de algumas espécies orgânicas, o uso de derivatizantes pode ser evitado devido às suas características mais apolares.[86] De maneira geral, a eficiência da LLE é dependente de fatores como a afinidade do analito pelo solvente extrator, o pH da fase aquosa, a natureza e a concentração do derivatizante, a estabilidade da espécie derivatizada, a natureza e o volume do solvente e o número de extrações sucessivas.[55,86]

Apesar de eficientes, os métodos convencionais de LLE possuem desvantagens, tais como o elevado consumo de solventes de alto custo e pureza e, frequentemente, de elevada toxicidade; o elevado tempo de extração; a dificuldade de automação e a elevada geração de resíduos. Entretanto, a miniaturização dos métodos de extração tem superado as limitações da LLE, principalmente na redução do volume de solvente e extrator. Devido a estas limitações, diversas alternativas e adaptações aos métodos convencionais de extração têm sido propostas, todas convergindo para os princípios da química analítica verde (*green analytical chemistry*, GAC).[88-91] É evidente que o atendimento aos princípios da GAC é importante, principalmente a eliminação ou redução da quantidade de solventes e de energia utilizados. Porém, isso pode acarretar na redução da eficiência de alguns parâmetros de desempenho do método, o que precisa ser cuidadosamente avaliado.

Assim, devido à necessidade da mudança de alguns paradigmas, processos de miniaturização dos métodos de extração vêm sendo desenvolvidos, os quais são comumente conhecidos como métodos de microextração em fase líquida (*liquid-phase microextraction*, LPME). Uma série de variações tem sido proposta, em função do tipo de solvente e forma de execução da extração.[86] Dentre essas, podem ser citadas a microextração líquido-líquido (*liquid-liquid microextraction*, LLME), mas

com derivações mais específicas, como a microextração em gota única (*single-drop microextraction*, SDME), a microextração líquido-líquido dispersiva (*dispersive liquid-liquid microextraction*, DLLME) e a microextração em fase líquida com fibra oca (*hollow fiber liquid-phase microextraction*, HF-LPME).[40,92,93] A seguir será feita uma breve descrição do princípio de cada um desses métodos.

- ✓ *SDME*: método não exaustivo, baseado na utilização de uma única gota da fase extratora, com características importantes como baixo custo e rapidez. Embora a primeira aplicação da SDME tenha sido publicada em 1997 para compostos orgânicos, somente em 2003 foi descrito o primeiro trabalho para análise de especiação (As(III) e As total).[94] Desde então, diversas aplicações têm sido propostas para a determinação de espécies de As, Cr, Hg, Sb, Se e Sn, entre outras.[89,92] Dentre os modos de aplicação da SDME para análise de especiação, podem ser citadas: *i*) SDME direta, em que uma microgota de um solvente (imiscível em água) é suspensa na ponta de uma seringa no interior da fase aquosa (amostra). Após a extração por um determinado tempo, a gota é recolhida e injetada no sistema de separação/detecção, podendo ser aplicada para extração de analitos com diferentes volatilidades; *ii*) SDME no *headspace*,[95] a qual é muito similar à SDME direta, porém a microgota fica acima da fase aquosa (sem contato com a amostra), proporcionando a extração de analitos voláteis ou semivoláteis; *iii*) microextração líquido-líquido-líquido (*liquid-liquid-liquid microextraction*, LLLME).[93,96] Apesar da aparente simplicidade, os métodos de SDME são muito dependentes da estabilidade da gota e da habilidade do analista.
- ✓ *HF-LPME*: este método permite a extração e pré-concentração de analitos de matrizes de composição variada, empregando sistemas bi ou trifásicos. No modo bifásico, o qual é o mais empregado, o analito é extraído de um meio aquoso para um extrator imiscível em água, que é imobilizado nos poros de uma fibra oca, por exemplo, de polipropileno, a qual é suportada em uma microseringa. Embora a HF-LPME tenha eficiência igual ou superior à SDME direta, existem poucas aplicações para a análise de especiação e apenas para espécies de Hg, Se e V.[97]
- ✓ *DLLME*: dentre os métodos de microextração líquido-líquido, a DLLME possui o maior número de aplicações para a análise de especiação de As, Fe, Hg, Se e Sn, entre outros, apesar de ser relativamente recente.[98,99] A DLLME

é baseada na injeção de uma mistura de solventes, extrator (solventes de baixa densidade e imiscíveis em água) e dispersor (solvente com miscibilidade em água e no extrator), na amostra aquosa, causando a dispersão do extrator e proporcionando grande área de contato. A adição da mistura de solventes é feita rapidamente e, geralmente, com auxílio de uma seringa. No momento da injeção pode ser observada a formação de microemulsão, composta por microgotas do solvente extrator contendo o analito extraído. Após centrifugação, ocorre a sedimentação do extrato, o qual pode ser removido com auxílio de uma seringa.[99,100] Dentre as vantagens da DLLME podem ser citadas a simplicidade na instrumentação e operação, os altos fatores de pré-concentração e o baixo custo. Entretanto, a precisão e a dificuldade na eliminação de interferências devem ser cuidadosamente avaliadas durante a escolha dos solventes. Outra importante vantagem da DLLME é o reduzido volume de solvente extrator requerido (geralmente inferior a 100 μL). Entretanto, alguns dos solventes mais utilizados na DLLME convencional são tóxicos (tetracloreto de carbono, clorofórmio, dissulfeto de carbono, clorobenzeno e 1,2-diclorobenzeno, entre outros). Com intuito de superar essa limitação, variadas formas de aplicação do método têm sido propostas, tais como o uso da DLLME com líquidos iônicos (*ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction*, IL-DLLME), DLLME assistida por ultrassom (*ultrassound-asssisted dispersive liquid-liquid microextraction*, US-DLLME) e DLLME com solidificação de gota flutuante (*dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop*, DLLME-SFO). Adicionalmente, a DLLME convencional ou suas variações são passíveis de automação e algumas propostas têm sido relatadas na literatura.[92,101]

Uma alternativa ao uso de solventes orgânicos é o emprego da extração em ponto nuvem (*cloud point extraction*, CPE). A CPE ocorre quando surfactantes não-iônicos, em solução aquosa e em quantidade acima da concentração micelar crítica (*critical micellar concentration*, CMC), são aquecidos acima de uma dada temperatura (ponto nuvem), causando a turvação da solução. Acima do ponto nuvem, após certo tempo (ou mediante centrifugação), são formadas duas fases líquidas: *i*) uma que contém alta concentração de surfactante e as espécies extraídas (fase rica) e *ii*) a fase aquosa que contém uma pequena concentração de surfactante, próxima à CMC

(fase pobre). Geralmente, os analitos com polaridade adequada serão extraídos, o que pode ser feito pela complexação prévia do analito. Assim, a CPE pode ser aplicada para espécies inorgânicas (As, Sb, Se e Sn) e orgânicas (Hg e Sn). Como vantagens da CPE, podem ser citadas, principalmente, o alto fator de pré-concentração, o uso de reagentes menos tóxicos e o menor custo.[86,102-104] Embora existam outras possibilidades de métodos de preparo de amostras baseados na LLE ou LLME, estes não serão discutidos neste capítulo pois possuem poucas aplicações para análise de especiação.

13.2.3. Extração em fase sólida

A SPE é baseada na distribuição de compostos entre uma fase líquida (amostra) e uma fase sólida (resina de troca iônica, resina polimérica, carvão ativado, sílica, etc) e nas forças intermoleculares entre as fases que influenciam a retenção e a eluição. A SPE pode ser utilizada nos modos batelada ou coluna (cartucho), mas devido à ampla comercialização de diversos tipos de cartucho, esse é o modo mais usado. Um dos poucos pré-requisitos necessários antes da pré-concentração por SPE é a preparação do cartucho que comumente se dá pela passagem sucessiva de solventes e/ou água ultrapura para equilibrar a coluna, limpar e neutralizar o sorvente. Em seguida, a amostra, em pH adequado, é passada pela coluna com vazão fixa. Após a retenção do analito na fase sólida, este pode ser eluído com solvente adequado.[22,86] Diferentemente dos métodos de LLE, na SPE é possível alterar drasticamente as características da fase sólida, como polaridade e seletividade. Isso tem sido feito, por exemplo, com o uso de materiais de tamanho nanométrico, materiais de origem animal e mineral, sílica modificada, polímeros molecularmente impressos (*molecularly imprinted polymers*, MIP) e materiais mesoporosos.[105,106] Entre as vantagens da SPE, podem ser citados os elevados fatores de pré-concentração, a simplicidade de operação, o baixo custo, o baixo consumo de reagentes tóxicos e a possibilidade de automação. Devido a essa grande versatilidade, a SPE tem sido empregada, por exemplo, para a determinação de espécies de As, Hg, Sb, Se e Te.[86] Mesmo com as diversas aplicações e vantagens da SPE, especialmente no que diz respeito ao reduzido uso de solventes (poucos mililitros), a evolução do método levou ao desenvolvimento de sistemas sem o uso de solventes, como é o caso da microextração em fase sólida (*solid phase microextraction*, SPME) e a extração sortiva em barra de agitação (*stir bar sorptive extraction*, SBSE).

A SPME é o método mais popular e eficiente baseado no uso de sorventes, com a vantagem adicional de não necessitar de solventes. A extração dos analitos por SPME consiste no uso de um sorvente, geralmente polidimetilsiloxano (PDMS), que recobre uma fibra de sílica fundida, a qual é encaixada no interior de uma agulha usada especificamente para SPME. No momento da extração, o sorvente é exposto e a aplicação pode ser nos modos direto (*direct solid phase microextraction*, D-SPME) ou no *headspace* (*headspace solid phase microextraction*, HS-PME). A dessorção do analito da fibra pode ser feita *i*) termicamente, onde a fibra é introduzida diretamente no injetor de um cromatógrafo a gás ou, *ii*) pela eluição com solventes, porém, há risco de ocorrer a redução do poder de pré-concentração pela inerente diluição, além de ser um modo em que se perde a característica "livre de solvente".[86,93] As principais limitações da SPME estão relacionadas com a natureza do sorvente e com o próprio processo de dessorção, que pode ser feito em temperaturas que variam entre 150 e 300 °C, dependendo da estabilidade das espécies. O uso de sorventes poliméricos pode acarretar em variações entre as replicatas, devido a danos na fibra ou contaminação. Devido às características da SPME, especialmente a possibilidade de dessorção térmica, a análise de especiação geralmente é feita para espécies voláteis ou volatilizáveis, tais como espécies orgânicas de Hg, Pb e Sn.[93]

A SBSE é fundamentada no uso de uma barra de agitação de 1 a 4 cm, recoberta com um polímero (geralmente PDMS). Os princípios da SBSE são os mesmos da SPME, porém a quantidade de sorvente é de cerca de 50 a 250 vezes maior, possibilitando o uso de maior volume de amostra. Entretanto, a maior massa de sorvente requer maiores tempos de dessorção. As formas de aplicação também são similares à SPME, no modo direto (*direct stir bar sorptive extraction*, D-SBSE) e no *headspace* (*headspace stir bar sorptive extraction*, HS-SBSE). Após a extração, a barra de agitação é retirada da amostra para dessorção térmica ou com solvente e posteriormente é feita a quantificação. Entre as vantagens da SBSE podem ser destacados o alto fator de pré-concentração, a boa reprodutibilidade, a alta capacidade de adsorção e o fato de não requerer solvente, no caso da dessorção térmica. Entretanto, alguns problemas estão associados, tais como o menor número de materiais de recobrimento, o alto custo, a baixa seletividade e a dificuldade de automação.[93,107] Apesar do reduzido número de aplicações da SBSE para análise de especiação, alguns trabalhos têm relatado seu uso para a determinação de compos-

tos de As, Se, Hg e Sn, com sistema de separação das espécies majoritariamente por GC, mas com diferentes detectores.[107]

A dispersão da matriz em fase sólida (*matrix solid-phase dispersion*, MSPD) é um método interessante de extração em fase sólida, porém para amostras viscosas, semisólidas ou sólidas.[108-110] O método consiste na mistura da amostra com um suporte sólido de característica abrasiva, como C8, C18, sílica, nanotubos de carbono, florisil, entre outros. O suporte sólido é macerado juntamente com a amostra com auxílio de almofariz e pistilo e a sua característica abrasiva, juntamente com a força mecânica aplicada na maceração, têm a função de promover o rompimento da estrutura física original da amostra, quebrando-a em partículas de menor granulometria. Nesse processo, os componentes da amostra são dispersos e adsorvidos no suporte sólido, diminuindo a interação entre o analito e os demais constituintes da matriz. Na MSPD original, a mistura é transferida e empacotada em cartuchos de SPE após a maceração. Em seguida, os analitos são eluídos com um solvente adequado em um sistema operado a vácuo, para acelerar o processo.[108] Durante a eluição podem ocorrer duas situações: *i*) os analitos podem ficar retidos no cartucho enquanto os demais constituintes são eluídos em uma etapa de lavagem sendo posteriormente eluidos com um solvente adequado; ou, *ii*) os componentes da matriz podem ser seletivamente retidos no cartucho e os analitos eluídos diretamente. Após a eluição, as espécies podem ser determinadas pela técnica mais adequada. Poucos trabalhos relacionados à análise de especiação empregando MSPD foram publicados até o momento, apesar de suas características promissoras.[109-112]

Uma outra estratégia de extração em fase sólida pode ser com o uso dos MIPs. Os MIPs foram idealizados visando resolver o problema de baixa seletividade, que é uma das maiores limitações dos métodos de extração em fase sólida. A impressão molecular em um polímero sintético ocorre pela copolimerização de um monômero funcional e um agente de ligação cruzada, na presença do analito. Após a síntese do polímero, o analito que serviu como "molde" (molécula impressa) é retirado, gerando uma matriz polimérica com espaços do tamanho exato do átomo/molécula do analito.[86,113] Devido a essas características, os MIPs têm sido empregados na análise de especiação, principalmente para espécies de Hg e Sn.[114,115] Entretanto, é importante salientar que a excelente seletividade pode dificultar a identificação de espécies desconhecidas na matriz, uma vez que essas não são usadas como molde na reação de polimerização.

13.2.4. Extração assistida por micro-ondas

O uso da radiação micro-ondas no preparo de amostras é uma prática comum nos métodos de decomposição e tem sido considerada como o estado da arte para esta finalidade. Por outro lado, a MAE também tem recebido destaque como forma de aquecimento em métodos de análise de especiação e centenas de trabalhos foram publicados recentemente sobre o assunto. Os principais ganhos da MAE para a extração de espécies são a redução no tempo sem prejudicar a eficiência de extração. Em alguns casos, quando necessário, a derivatização de espécies pode ser feita simultaneamente. É importante notar que os solventes empregados na MAE são os mesmos da extração sólido-líquido convencional (ver item *13.2.1*).[22]

A aplicação da radiação micro-ondas pode ser feita com praticamente todos os tipos de equipamentos disponíveis comercialmente (ver Capítulo 10), em frascos poliméricos, de vidro ou quartzo, abertos ou fechados, com irradiação em fornos com cavidade ou com radiação focalizada. Entretanto, alguns cuidados devem ser tomados quanto à volatilidade do analito (para sistemas abertos), reatividade entre solução extratora e frasco reacional, bem como a possibilidade de contaminação.

Conforme mencionado anteriormente, as soluções extratoras podem variar de acordo com a espécie a ser determinada e devem ser compatíveis com o sistema de separação e/ou detecção. As soluções mais empregadas para extração de diferentes espécies são: (*i*) Sb - soluções de ácido cítrico, metanol, NaOH ou suas combinações; (*ii*) As - misturas compostas por água e metanol, soluções de tampão fosfato ou HNO_3 diluído; (*iii*) Hg - hidrólise ácida (HCl ou HBr diluídos), hidrólise alcalina (KOH ou NaOH), mercaptoetanol, L-cisteína ou TMAH; (*iv*) Se - hidrólise enzimática (protease XIV, pronase E, lipase e tripsina), água quente, misturas metanol e água ou água, metanol e clorofórmio, ácidos diluídos ou tampão Tris-HCl; (*v*) Sn - ácido acético ou TMAH.[116-119]

Apesar das vantagens e diversas possibilidades de aplicação da MAE para análise de especiação, é importante ter cuidado com alguns aspectos, tais como o controle de temperatura, nos casos de espécies termicamente sensíveis; compatibilidade do extrato com a técnica de separação e detecção (por exemplo, para cromatografia a líquido, mercaptoetanol danifica as colunas C8 e C18); e a possibilidade de interconversão de espécies.

13.2.5. Extração assistida por ultrassom

A UAE é uma abordagem que gera controvérsias quando aplicada no preparo de amostras para análise de especiação. Os efeitos gerados pelas ondas ultrassônicas (ver Capítulo 6), tais como pontos localizados de altas temperatura e pressão, alta taxa de dissipação da temperatura, formação de espécies radicalares, alto poder de lixiviação (formação de microjatos), são muito úteis para a posterior determinação da concentração total de um elemento. No entanto, essas características muitas vezes não são desejáveis para extração. Isso se deve à instabilidade de muitas espécies, que podem ser afetadas pelos efeitos do ultrassom, como a alteração no estado de oxidação, rompimento de ligações de espécies organometálicas e interconversão térmica.[118,120]

Devido às características peculiares do ultrassom, durante o desenvolvimento e otimização de um método de UAE, é necessário avaliar cuidadosamente parâmetros como a temperatura, o tempo, o pH, a frequência e a potência do instrumento, bem como o tipo de solução extratora, uma vez que estes parâmetros ou suas combinações podem alterar significativamente a estabilidade de algumas espécies. Adicionalmente, é de extrema importância conhecer os constituintes majoritários da matriz pois, dependendo da substância, podem ocorrer simultaneamente reações de oxidação e redução pela ação do ultrassom, as quais podem causar interconversão, principalmente para espécies inorgânicas.

Em muitas das aplicações da UAE para análise de especiação, é frequente o simples uso do instrumento sem qualquer otimização ou ajuste, podendo afetar principalmente a estabilidade das espécies. Entretanto, devido aos fenômenos descritos anteriormente, nem mesmo o uso de CRMs pode fornecer resultados confiáveis para a avaliação da exatidão.

Comparativamente à MAE, a UAE tem número muito menor de aplicações e estas são mais direcionadas a espécies de As, Hg e Sn, além de poucos estudos para espécies de Cr, I, S, Sb e Se.[86,118,121] Conforme mencionado anteriormente, as ondas ultrassônicas têm sido aplicadas recentemente como forma de dispersão para extrações com DLLME (US-DLLME). Além disso, para essas aplicações em especial, o ultrassom atua como formador da emulsão e não com a função de promover a lixiviação, que seria necessária nos métodos de extração.

13.2.6. Extração com fluído supercrítico

Um fluido supercrítico (*supercritical fluid*, SF) é qualquer substância que está acima da sua pressão e temperatura críticas. O ponto crítico é um valor no qual não é formado gás quando é aumentada a temperatura e que não ocorre liquefação, quando é aumentada a pressão. Neste ponto, as fases líquida e gasosa deixam de existir, havendo a formação de uma única fase supercrítica, a qual possui propriedades intermediárias entre as dos gases e dos líquidos. Quando empregados na SFE, estes fluidos possuem densidade e poder de solvatação similares aos líquidos e viscosidade similar aos gases. Essas características facilitam a solubilização do analito pela maior fluidez, maior difusividade e menor tensão superficial do SF, aumentando a transferência de massa. O CO_2 está entre os SFs mais empregados, devido à baixa toxicidade e não inflamabilidade, podendo ser obtido em alta pureza e com baixo custo. A aplicação do CO_2 na análise de especiação é vantajosa também para elementos instáveis termicamente, devido à temperatura e pressão crítica de 31,1 °C e 73,8 bar, respectivamente. Adicionalmente, devido à baixa reatividade, raramente são observados problemas de degradação ou interconversão de espécies.[86,122]

A principal limitação da SFE com CO_2 é a eficiência apenas para compostos apolares. Entretanto, esse problema pode ser minimizado pelo uso de modificadores (pequenas quantidades de solventes polares). Esta maior versatilidade para extração de compostos com polaridades variadas possibilitou o uso da SFE no preparo de amostras para análise de especiação, com diversas aplicações para compostos orgânicos de Sn.[113] Por outro lado, há poucas aplicações para espécies de Cr, Hg e Pb.[123-126]

13.2.7. Extração acelerada por solvente

A ASE, também conhecida como extração com líquido pressurizado (*pressurized liquid extraction*, PLE), extração com fluido pressurizado (*pressurized fluid extraction*, PFE) ou extração com solvente pressurizado (*pressurized solvent extraction*, PSE), consiste no uso de solventes em alta temperatura e/ou pressão, mas sem atingir o ponto crítico. Nestas condições, o solvente permanece em fase líquida, porém algumas propriedades mudam drasticamente, tais como densidade, viscosidade, tensão superficial e constante dielétrica. A redução da viscosidade e da tensão superficial facilitam a penetração do solvente na amostra, aumentando o contato.[86]

Uma das vantagens da ASE é o tempo de extração reduzido, geralmente entre 2 e 10 min. Apesar da alta temperatura ser um aspecto importante deste tipo de extração, pode ocorrer a degradação de compostos termolábeis. Os sistemas comerciais são automatizados, mas de custo relativamente alto.[86] A ASE tem sido empregada na análise de especiação para uma classe restrita de espécies, com destaque para As, Se e Sn.[127-130]

13.3. PREPARO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE BIOINORGÂNICA

13.3.1. Aspectos gerais

Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de compreender, de uma forma integrada, os sistemas biológicos através da identificação e/ou quantificação de componentes de sistemas celulares, como genes, proteínas e metabólitos.[131] Esses estudos têm contribuído para o desenvolvimento das ciências "ômicas", as quais também visam a avaliação dos efeitos biológicos ocasionados por substâncias exógenas. Essas substâncias causam, geralmente, alterações no âmbito celular, especialmente na expressão de genes e proteínas, e na produção de metabólitos.[132,133] De acordo com os componentes celulares estudados, as ciências "ômicas" podem ser classificadas como genômica, proteômica, peptidômica, metabolômica, lipidômica e metalômica.[132,133]

Dentre as áreas que deram origem às ciências "ômicas", a metalômica tem como principal objetivo a identificação, quantificação e/ou determinação da localização de espécies químicas de metais e metaloides em células ou tecidos. Nesse sentido, a metalômica contribui para a compreensão das vias toxicológicas e metabólicas de elementos tóxicos e essenciais através de informações quali e quantitativas com relação a estes elementos e suas espécies químicas, suas interações, transformações e funções em sistemas biológicos.[134-136]

O crescente interesse em estudar os metais, bem como as suas espécies em sistemas biológicos, tem levado ao desenvolvimento de diversos métodos analíticos. A maioria desses envolve o uso de uma ou mais etapas de separação associadas a técnicas de determinação. Essas etapas são feitas a fim de separar as biomoléculas previamente à determinação ou para eliminar possíveis interferentes presentes

na matriz da amostra.[137-138] Dentre os sistemas de separação comumente utilizados, pode-se destacar a GC, a LC, a CE e a eletroforese em gel (*gel electrophoresis*, GE).[139] No que diz respeito às técnicas eletroforéticas, cabe salientar que a GE é considerada uma técnica importante para a separação de biomoléculas, fundamentada na migração ao longo de um gel sob ação de um campo elétrico, sendo a velocidade de migração determinada pelo tamanho, carga elétrica e estrutura molecular.[140] Além disso, a eletroforese bidimensional em gel (*two dimension gel electrophoresis,* 2D-GE) tem sido amplamente utilizada em estudos de proteômica. Na 2D-GE, as proteínas são separadas de acordo com o ponto isoelétrico em uma primeira dimensão e, posteriormente, separadas em uma segunda dimensão de acordo com a massa molecular.[140,141] Após a separação por GE, é possível a digestão enzimática de proteínas na superfície dos substratos provenientes deste processo. Assim, posteriormente ao processo de digestão enzimática, é possível determinar peptídeos ou aminoácidos (dependendo do substrato e do processo) que contém a espécie metálica ligada a estes. De acordo com relatos da literatura, o processo de digestão enzimática pode ser potencializado pelo aquecimento com radiação micro-ondas.[142]

A etapa de determinação na análise bioinorgânica tem sido amplamente realizada por técnicas como a espectrometria de massas.[9] Para tanto, essa técnica tem sido associada a fontes de ionização suaves ou a fontes de ionização de elevada energia, sendo a escolha dependente do tipo de analito.[143-145] Contudo, quando utilizada uma fonte de ionização de elevada energia, como o plasma de argônio, é imprescindível que seja feita a separação dos componentes presentes na amostra, previamente à etapa de ionização. Isso ocorre porque as fontes de ionização de elevada energia não permitem a conservação das ligações químicas presentes nas moléculas a serem determinadas, o que inviabiliza a obtenção de informação molecular de uma forma direta.[75] Em alguns trabalhos, a determinação de metais tem sido feita por técnicas espectrométricas e, para tanto, as frações que contém o analito são, geralmente, preparadas para análise por meio da decomposição por via úmida utilizando ácidos oxidantes.[138,146-149]

Nesse contexto, é importante salientar que o preparo de amostras para análise bioinorgânica pode ser ainda considerado uma etapa crítica, visto que alguns métodos podem não ser capazes de manter a ligação entre o metal e as moléculas orgânicas.[138] Assim, métodos de preparo de amostras para análise bioinorgânica

têm sido baseados no uso de ultrassom ou radiação micro-ondas como fonte de energia, desde que garantam condições suficientemente brandas.

13.3.2. Preparo de amostras

O preparo de amostras para a subsequente determinação de biomoléculas envolve, geralmente, o uso de processos suaves com o objetivo de evitar a perda e/ou interconversão dos analitos.[150] Assim, a maioria dos estudos relatados na literatura envolve o uso da extração.[138]

Sob este aspecto, a primeira etapa de um método de preparo de amostra deve envolver a ruptura celular ou a degradação parcial da matriz visando a extração dos analitos a partir da célula ou tecido.[150] Os métodos mais utilizados para a ruptura celular são baseados em processos mecânicos, químicos, na *lise* enzimática, osmose, procedimentos de congelamento e descongelamento, entre outros.[150-152] Apesar da maioria dos métodos ser baseada em processos físicos, muitos deles utilizando reagentes como, por exemplo, tensoativos, são escolhidos devido às suas características como baixo custo, elevada eficiência e compatibilidade com diversas técnicas eletroforéticas, cromatográficas e de espectrometria de massas.[151,153]

Além dos tensoativos, reagentes como soluções tampão, agentes redutores ou enzimas têm sido utilizados para extração ou solubilização das espécies.[138] As soluções tampão também fornecem a força iônica necessária para a solubilização de proteínas e devem ser escolhidas de acordo com o tipo de proteína presente na amostra. Por outro lado, os tensoativos podem ser utilizados para a solubilização das membranas celulares, por meio do rompimento da interação lipídeo-proteína, o que pode requerer atenção, pois pode resultar na solubilização de metaloproteínas. Na maioria dos casos, surfactantes não iônicos e os zwitteriônicos são menos desnaturantes quando comparados aos surfactantes iônicos. Assim, estes reagentes são preferencialmente utilizados para a solubilização de proteínas em estudos que visam à avaliação da função destas biomoléculas. Por outro lado, surfactantes iônicos são agentes solubilizantes fortes, culminando na desnaturação proteica.[153]

O dodecil sulfato de sódio é um surfactante iônico que vem sendo utilizado para a efetiva solubilização de proteínas.[145,154] Apesar disso, a sua utilização tem sido associada a interferências durante a separação eletroforética, devendo ser removido previamente a essa etapa ou utilizado de forma conjunta com um excesso

de surfactantes não iônicos ou zwitteriônicos.[141,153] Ademais, existem relatos que o dodecil sulfato de sódio também causa interferências durante a determinação por espectrometria de massas devendo, assim, ser evitado.[138,155] Dessa forma, atualmente, é possível encontrar alguns reagentes comerciais constituídos principalmente por misturas de surfactantes e por inibidores de protease para a ruptura celular.[143]

Reagentes redutores são utilizados em alguns estudos com o objetivo de reduzir as ligações dissulfeto, contribuindo para o processo de desnaturação proteica e evitando a oxidação de proteínas.[141,153,156] Alguns reagentes comumente utilizados são o ditiotreitol, ditioeritrol e β-mercaptoetanol. Contudo, é importante salientar que durante a etapa de separação podem ocorrer alguns problemas, como a ionização do redutor, a reoxidação das ligações dissulfeto e a precipitação de algumas proteínas.[141,157]

As enzimas também podem ser utilizadas para promover a degradação da matriz ou para disponibilizar seletivamente o analito a partir da amostra.[158] O uso de enzimas pode se tornar ainda mais atrativo tendo em vista que as moléculas orgânicas são sensíveis a condições extremas de pH e temperatura, as quais não são requeridas quando enzimas são utilizadas na extração. Dessa forma, nenhum efeito adicional ou indesejado é esperado.[159]

Diante do que foi mencionado, fica evidente que a extração ou solubilização das espécies pode ser considerada a etapa mais crítica da análise bioinorgânica, além de, geralmente, requerer um longo período de tempo (3 a 16 h) para a sua realização.[151,160] Contudo, é importante mencionar que estudos na literatura têm apresentado algumas estratégias alternativas para o preparo de amostras, como a MAE ou UAE.[138]

A MAE tem sido utilizada para a extração de compostos lábeis a partir de amostras complexas devido ao aquecimento relativamente homogêneo, rápido e controlado, mostrando-se vantajosa frente aos métodos que utilizam aquecimento convencional.[161,162] No entanto, investigações devem ser feitas previamente para evitar a alteração do analito devido ao aquecimento excessivo.[161-164] As ondas ultrassônicas também podem aumentar a eficiência da extração durante o preparo de amostras para a análise bioinorgânica.[165] Entretanto, a UAE pode resultar em alguns efeitos indesejáveis relacionados à degradação e à perda dos analitos em virtude da frequência e potência do sistema de ultrassom utilizado, requerendo uma otimização prévia.[165-167]

Neste contexto, durante ou após a etapa de preparo de amostras, compostos interferentes podem ser inativados ou removidos por meio de uma etapa de limpeza (*clean up*).[138] Dentre as técnicas utilizadas para purificação de extratos pode-se destacar a liofilização, centrifugação, ultrafiltração, filtração em gel, cromatografia de permeação em gel e cromatografia em coluna.[168] Ademais, em alguns casos pode ser realizada a precipitação seletiva de alguns componentes.[169]

13.4. APLICAÇÕES SELECIONADAS

De uma maneira geral, não há na literatura um método universal para ser utilizado no preparo de amostras para análise de especiação para matrizes diversas e/ou envolvendo diferentes espécies, uma vez que inúmeros fatores afetam a estabilidade e a eficiência de extração. Assim, para cada aplicação e analito deve ser desenvolvido e avaliado um método para o preparo da amostra que garanta a integridade das espécies e uma extração quantitativa, combinados a uma técnica de detecção adequada. Considerando a diversidade de métodos para a análise de especiação, bem como a variedade de amostras e espécies estudadas, procedimentos envolvendo o preparo de amostras líquidas, sólidas e de gases foram selecionados, como forma de exemplificar as aplicações nesta área.

13.4.1. Amostras líquidas

A análise de especiação em amostras líquidas varia em função da espécie, do tipo de amostra, do local de amostragem e das propriedades a serem analisadas, dentre outros fatores. De uma maneira geral, atenção deve ser dada à representatividade, pois na maioria das vezes a amostra não se encontra homogênea, principalmente se houver a presença de material particulado. A análise de especiação no contexto ambiental representa uma das principais demandas envolvendo amostras líquidas, principalmente de águas (rios, lagos, mar, efluentes), uma vez que poluentes são continuamente descartados nos rios e corpos d'água, acarretando em risco ao ambiente aquático, incluindo o risco à potabilidade da água e de contaminação ambiental. Nesse sentido, a determinação de diversas espécies em ambientes aquáticos, principalmente de As,[27,170-173] Hg[8,174-176]

e Sn[27,177,178] e, mais recentemente, Sb,[179] foram relatadas e seguem sendo alvo de inúmeras investigações.

Em termos gerais, pode-se considerar que o desafio principal nesse tipo de amostra seja a garantia da estabilidade das espécies, da coleta ao preparo. Espécies em solução estão sujeitas a vários fatores que podem contribuir para a alteração de sua característica original, tais como pH, presença de concomitantes da matriz, além das condições escolhidas para o preparo de amostras (principalmente temperatura e reagentes), o que exige atenção.[180] Ainda, dependendo do meio líquido em questão (aquoso ou majoritariamente orgânico), o preparo de amostra poderá também depender fortemente da eficiência de extração, conforme discutido anteriormente. Alguns exemplos de aplicações para amostras líquidas estão mostrados na Tabela 13.3.[83,98,175-176,181-190]

13.4.2. Amostras sólidas

Em estudos de especiação envolvendo amostras sólidas, a garantia da representatividade é crítica e a heterogeneidade pode afetar os resultados. A necessidade de garantir a extração das espécies, dependente da interação sólido-líquido (meio extrator), pode exigir condições mais extremas, que podem colocar em risco a estabilidade.[180] Principalmente quando se trata de elementos que possuem formas orgânicas e inorgânicas comuns, por exemplo, As[173,191-196] e Hg[8,197-200], a eficiência de extração pode ser ainda mais crítica, e comumente é necessário fazer uso de solventes de menor polaridade (por exemplo, metanol e diclorometano) em combinação com o meio aquoso (água e soluções aquosas de sais, ácidos e bases diluídos). Alguns exemplos de métodos de análise de especiação para amostras sólidas estão resumidos na Tabela 13.4. [60,192,193,201-213]

13.4.3. Amostras de gases

Dentre as amostras de gases normalmente analisadas, destacam-se o ar atmosférico, o ar presente em um ambiente de trabalho, os gases emitidos de depósitos de lixo, da atmosfera de indústrias e de ecossistemas aquáticos, dentre outros. Espécies de interesse normalmente incluem compostos metálicos ou metaloides presentes na fase gasosa ou associados ao material particulado (aerosol), tais como hidretos e/ou espé-

Tabela 13.3. Características de alguns métodos de preparo de amostras líquidas para análise de especiação.

Elemento	Amostra	Espécies	Características do método de preparo de amostras	Técnica de detecção
As, Cr e Se	água[181]	As(III), As(V), MMA e DMA Cr(VI) Se(IV) e Se(VI)	filtração e injeção; separação em coluna de troca aniônica	LC-HG-ICP-MS
As	água residual do tratamento de xisto[83]	As(III), As(V), MMA e DMA	homogeneização manual, centrifugação e filtração previamente à injeção	LC-ICP-MS
	medicamento injetável[182]	As(III), As(V), MMA, DMA e TMAO	diluição em água (2000 vezes) e fortificação com as espécies de arsênio; após, aprisionamento criogênico para detecção em sequência	HG-CT-AAS
	urina[183]	As(III), As(V), AsB, AsC, MMA, DMA, TMAO	centrifugação e diluição; separação em coluna de troca iônica	LC-ICP-MS
	vinho branco[184]	As(III), As(V) e DMA	diluição	LC-ICP-MS
Cr	urina[185]	Cr(III) e Cr(VI)	redução fotocatalítica *on line* com nano-Au/TiO_2 de Cr(VI) para Cr(III) em 1 mol L^{-1} ácido fórmico	FI-GFAAS
Hg	água fortificada[166]	Hg^{2+} e H_3CHg^+	fortificação e adição de ácido fórmico para favorecer a geração de vapor frio; em seguida, irradiação por processo fotoquímico ou por ultrassom	CV-AFS
	água[175]	Hg^0 e $(H_3C)_2Hg$	Hg^0 e $(H_3C)_2Hg$ voláteis no meio aquoso - purgados e pré-concentrados em liga de ouro (Hg total); para especiação, os vapores foram direcionados a colunas empacotadas (para $(H_3C)_2Hg$)	CV-AAS CV-AFS
	água[98]	Hg^{2+} e H_3CHg^+	DLLME usando uma mistura de 80 µL de C_2Cl_4 (solvente extrator), 1000 µL de etanol (solvente dispersor) e 300 µL de tetrafenilborato de sódio 2,1 mmol L^{-1} (agente derivatizante), centrifugação a 3000 rpm por 5 min	GC-MS
	vinho tinto[186]	Hg^{2+} e H_3CHg^+	5 mL de vinho misturados com 4 mL de solução tampão de ácido acético/acetato de sódio (pH 4,9); adição de 1 mL de hexano e 0,5 mL de $NaBPh_4$ e os frascos contendo a mistura foram agitados por 30 min a temperatura ambiente; a mistura foi centrifugada a 3000 rpm por 10 min e a fase orgânica foi mantida a -20 °C até a determinação	GC-ICP-MS
Pb	urina[187]	Me_3Pb^+ e Et_3Pb^+	ajuste para pH 10 com NaOH + EDTA para a complexação dos metais e remoção dos precipitados por centrifugação; adsorção em sílica e dessorção de Me_3Pb^+; Et_3Pb^+ em tampão acetato (pH=3) em metanol (10%); adição de tampão borato (pH=7) para detecção	LC-UV

Tabela 13.3. Características de alguns métodos de preparo de amostras líquidas para análise de especiação. (cont.)

Elemento	Amostra	Espécies	Características do método de preparo de amostras	Técnica de detecção
Sb	medicamento injetável[188]	Sb(III) e Sb(V)	amostra adicionada diretamente na célula eletroquímica com 0,6 mol L^{-1} HCl	LC-ICP-MS DPP
	medicamento injetável[189]	Sb(III) e Sb(V)	diluição em água; geração seletiva com 10% (m/v) KI em 0,2% (m/v) ácido ascórbico	HGAAS
Se	urina[190]	Se(IV) e Se(VI)	diluição (duas vezes, com a fase móvel da LC); SEC, SPE (C_{18}) e cromatografia de pareamento iônico foram usadas para separação de metabólitos	LC-ICP-MS LC-UV APCI-MS

As: arsenobetaína, AsB; arsenocolina, AsC; dimetilarsênio, DMA; monometilarsênio, MMA; óxido de trimetilarsina, TMAO.
Pb: trimetilchumbo, Me_3Pb^+; trietilchumbo, Et_3Pb^+.
Sb: trimetilantimônio, Me_3Sb.
APCI-MS: espectrometria de massas com ionização química à pressão atmosférica; CV-AAS: geração de vapor frio acoplada a espectrometria de absorção atômica; CV-AFS: geração de vapor frio acoplada a espectrometria de fluorescência atômica; DDP: polarografia de pulso diferencial; DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva; FI-GFAAS: espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e injeção em fluxo; GC-ICP-MS: cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; GC-MS: cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas; HGAAS: espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos; HG-CT-AAS: geração de hidretos com aprisionamento criogênico acoplado à espectrometria de absorção atômica com chama; LC-UV: cromatografia a líquido com detector por espectrofotometria na região do ultravioleta; LC-ICP-MS: cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de masssa com plasma indutivamente acoplado; LC-HG-ICP-MS: cromatografia a líquido com geração de hidretos acoplada a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; SEC: cromatografia de exclusão por tamanho.

Tabela 13.4. Características de alguns métodos de preparo de amostras sólidas para análise de especiação.

Elemento	Amostra	Espécies	Características do método de preparo de amostras	Técnica de detecção
As	farinha de arroz[192]	As(III), As(V) e DMA	extração assistida por radiação micro-ondas com o uso de água, a 80 °C, por 30 min	LC-ICP-MS
	arroz[201]	As(III) e As(V)	kit para teste de campo (reação de Gutzeit); a amostra macerada, dissolvida em água, reage com borohidreto de sódio na presença de ácido sulfâmico, gerando arsina, que é coletada por um papel impregnado com HgBr	colorimétrica; LC-ICP-MS (comparação)
	folhas, músculo de tubarão e amostras de algas[193]	As(III), As(V), DMA	solubilização em 6 mol L^{-1} HCl e extração com tolueno após redução com KI	HGAAS
	seafood (raw and after culinary treatment) [202,203]	As(III), As(V), MMA, DMA e AsB	extração com 30 mmol L^{-1} HNO_3 a 100 °C por 30 min em bloco de aquecimento	LC-ICP-MS/MS
Cd	plantas (*Brassica chinensis*)[204]	Cd-PC	planta moída imediatamente após a coleta em meio N_2 líquido e homogeneizada em meio tamponado (NH_4HCO_3) a frio; centrifugação; a solução liofilizada é ressuspendida em NH_4HCO_3 (50 mmol L^{-1}, tampão de pH 7,8); também empregado como fase móvel	SEC-ICP-MS ESI-MS/MS

Tabela 13.4. Características de alguns métodos de preparo de amostras sólidas para análise de especiação. (cont.)

Elemento	Amostra	Espécies	Características do método de preparo de amostras	Técnica de detecção
Cr	alimento[205]	Cr(III) e Cr(VI)	extração alcalina; monitoramento da estabilidade com isótopos estáveis	LC-ICP-MS
	cimento[205]	Cr(III) e Cr(VI)	extração em banho de areia com Na_2CO_3 (0,10 mol L^{-1}); a determinação de Cr(VI) foi feita por espectrofotometria UV-Vis, usando 1,5-difenilcarbazida como reagente cromogênico; a concentração de Cr(III) foi obtida pela diferença entre os teores de cromo total, determinado por FAAS após decomposição por fusão e os teores de Cr(VI)	UV-Vis FAAS
Hg	tecidos de peixes[60,207]	Hg^{2+} e H_3CHg^+	extração com 0,6% (m/v) de L-cisteína a 20 °C, por 12 h	LC-CVG-ICP-MS
Se	ração animal e carne bovina[208]	SeCys, SeMet, SeOMet, Se(IV) e Se(VI)	análise preliminar por SEC, após extração em meio de um inibidor de protease (PSMF), surfactante (SDS) e tampão Tris-HCl; especiação feita por digestão enzimática (proteinase K, protease XIV e pancreatina, empregando-se uma sonda ultrassônica, agitação, aquecimento e diluição na fase móvel	LC-ICP-MS
	castanha do Brasil[209]	SeMet, SeCys e SeEt	extração enzimática com HCl diluído	LC-ICP-MS
Se e Te	solos e águas[210]	Se(IV). Se(VI), Te(IV) e Te(VI)	extração e pré-concentração em fase líquida (HF-LPME, comerciais); pirrolidina ditiocarbamato de amônio foi utilizado como complexante para extração seletiva de Se(IV) e Te (IV)	GFAAS
Sb	solos[211]	Sb(III) e Sb(V)	extração com ácido cítrico (100 mmol L^{-1}, em pH 2,1) empregando banho de ultrassom por 45 min, a temperatura ambiente	LC-ID-ICP-MS
Ca, Fe e Zn	leite humano[212]	Ca, Fe e Zn metaloproteínas	íons metálicos ligados a imunoglobulina A; 2D-PAGE foi usada para separação das proteínas; o teor total de Ca, Fe e Zn nos *spots* foi determinado por FAAS	LC-MS
Fe	humor vítreo[213]	Fe-proteína	diluição (5 vezes na fase móvel), centrifugação e filtração; SEC foi usada para separação das metaloproteínas	LC-ICP-MS ESI-MS/MS

As: dimetilarsênio, DMA.
Cd: cádmio fitoquelatinas, Cd-PC.
Se: selenocisteína, SeCys; selenometionina, SeMet; selenoetionina, SeEt; oxido-Se-selenometionina, SeOMet; dimetilseleneto, Me_2Se; dimetildiseleneto, Me_2Se_2.
ESI-MS/MS: espectrometria de massas com *eletrospray*; FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama; FI-G-FAAS: espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e injeção em fluxo; GFAAS: espectrometria de absorção atômica com forno de grafite; HGAAS: espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos; LC-ID-ICP-MS: cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado com diluição isotópica; LC-CVG-ICP-MS: cromatografia a líquido com geração química de vapor acoplada a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; LC-ICP-MS: cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; LC-MS: cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas; SEC: cromatografia de exclusão por tamanho; SEC-ICP-MS: cromatografia de exclusão por tamanho acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; UV-Vis: espectrofotometria de absorção molecular na região do visível; 2D-PAGE: eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida.

cies metiladas de As, Hg, Pb, Se e Sb.[214-221] No caso de gases, a coleta representativa das amostras e as perdas são os fatores cruciais para a exatidão do método. Os principais métodos para coleta e preparo de amostras gasosas envolvem a adsorção dos gases imediatamente após a coleta, realizada de forma cuidadosa, com o objetivo de evitar contaminações e preservar as espécies presentes. Colunas empacotadas (ou cartuchos) com adsorventes seletivos estão disponíveis para este tipo de aplicação.[214-217,220] Uma vez que as amostras são armazenadas e preservadas, a análise de especiação é comumente conduzida promovendo a dessorção das espécies diretamente ou com mínimo tratamento para a técnica de detecção.[84,215,218,220] Na Tabela 13.5 [216,220-222] estão resumidos alguns exemplos de métodos de análise de especiação para amostras de gases.

Tabela 13.5. Características de alguns métodos de preparo de amostras de gases para análise de especiação.

Elemento	Amostra	Espécies	Características do método de preparo de amostras	Técnica de detecção
As	ar atmosférico (ambientes urbanos e rurais)[216]	As(III), MMA, DMA e TMA	amostras coletadas e armazenadas em nitrogênio líquido em bolsas poliméricas, analitos dessorvidos em solvente moderadamente polar (tolueno ou acetato de etila) ou por dessorção térmica diretamente na coluna cromatográfica	GC-ICP-MS
Hg	gás natural[2232]	Hg^0, $HgCl_2$, $(H_3C)_2Hg$, $(C_2H_5)_2Hg$, MeEtHg, MeHgCl, EtHgCl e DBuHg	amostras armazenadas em frascos de PTFE e analisadas o mais breve possível.	GC-ICP-MS
Hg e Pb	ar[223]	$Me_{4-n}Et_nPb$ (n = 0–4) e Hg^0	amostras aprisionadas imediatamente após a coleta, mantidas a -80 °C e analisadas a baixas temperaturas	GC-ICP-MS
Sb e Sn	gases gerados em aterros e lodo de esgoto[220]	Me_3Sb, Me_4Sn, Et_2Me_2Sn	separação por GC (aprisionamento criogênico) acoplado diretamente ao instrumento ICP-MS	GC-ICP-MS

As: monometilarsênio, MMA; dimetilarsênio, DMA; trimetilarsênio, TMA.
Hg: compostos de metiletilmercúrio, MeEtHg; cloreto de metilmercúrio, MeHgCl; cloreto de etilmercúrio, EtHgCl; dibutilmercúrio, DBuHg.
Sb: trimetilantimônio, Me_3Sb.
Se: dimetilseleneto, Me_2Se; dimetildiseleneto, Me_2Se_2.
Pb: trimetilchumbo, Me_3Pb^+; trietilchumbo, Et_3Pb^+; tetrametilchumbo, Me_4Pb; tetraetilchumbo, Et_4Pb; compostos tetraalquil de chumbo, $Me_{4-n}Et_nPb$.
Sn: tetrametilestanho, Me_4Sn; tetraetilestanho, Et_4Sn; compostos de dietil e dimetil estanho, Et_2Me_2Sn.
GC-ICP-MS: cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; GC: cromatografia a gás; PTFE: politetrafluoretileno.

13.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E TENDÊNCIAS

A demanda por métodos de análise de especiação serve aos propósitos de diversas áreas, desde a avaliação de impactos ambientais, saúde, toxicologia, clínica, química e biologia, onde se reconhece que as propriedades químicas, biológicas e toxicológicas de um elemento são criticamente dependentes da forma como este ocorre. A análise de especiação tem se tornado cada vez mais relevante em várias áreas, despertando o interesse da indústria, de organizações de saúde e meio ambiente e de órgãos legisladores, exigindo que sejam desenvolvidos e disponibilizados métodos para análise de especiação com o rigor necessário.

Nesse capítulo, foram discutidos os aspectos relevantes aos métodos de preparo de amostras para análise de especiação química. Em especial, por entender que é nesta etapa que mais se manipula a amostra, comumente combinando reagentes químicos e, eventualmente aquecimento, por tempos que vão de minutos até horas, admite-se que esta etapa é ainda mais crítica no contexto da análise de especiação. Os métodos de preparo de amostras que, em geral, podem ser todos os discutidos nos demais capítulos do presente livro, precisam agregar a exigência fundamental de assegurar a exatidão de um método de análise de especiação: a extração quantitativa e a integridade e estabilidade das espécies. Sob este aspecto, os métodos foram revistos, com ênfase para as particularidades da análise de especiação.

Apesar do número relativamente elevado de métodos e dos avanços na instrumentação, é possível destacar alguns desafios na área. Uma linha de pesquisa ainda carente é a de investigação a respeito da estabilidade desde a coleta até a chegada ao laboratório, devendo ser considerados os efeitos do pré-tratamento. Outra demanda na área é a produção de padrões para espécies químicas e de CRMs, uma vez que as opções disponíveis ainda são restritas. Da mesma forma, a proposição de métodos/normas de referência (por exemplo, ISO, EPA, ASTM, farmacopeias e demais órgãos regulamentadores e de padronização) também é necessária. Por fim, é esperado também o desenvolvimento de métodos para um conjunto de elementos e algumas espécies, para os quais qualquer informação é, até o presente, inexistente ou pouco explorada.

REFERÊNCIAS

1. FELDMANN, J.; ELGAZALI, A.; EZZELDIN, M. F.; GAJDOSECHOVA, Z.; KRUPP, E.; ABORODE, F.; LAWAN, M. M.; RAAB, A.; PETURSDOTTIR, A. H.; AMAYO, K. **Microwave-assisted sample preparation for element speciation**. In: Flores, E. M. M., Ed., **Microwave-assisted sample preparation for trace element determination**, Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 281-312.
2. CORNELIS, R.; CREWS, H.; CARUSO, J.; HEUMANN, K. **Handbook of elemental speciation: techniques and methodology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2003. 657 p.
3. YILDIRIM, E.; YILDIRIM, L. S. **Aspects of speciation**. In: Bakirdere, S., Ed., **Speciation studies in soil, sediment and environmental samples**, Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 1-18.
4. BARRA, C. M.; SANTELLI, R. E.; ABRAO, J. J.; DE LA GUARDIA, M. Arsenic speciation - A review. **Química Nova**, 23, 58-70, 2000.
5. GAO, Y.; SHI, Z. M.; LONG, Z.; WU, P.; ZHENG, C. B.; HOU, X. D. Determination and speciation of mercury in environmental and biological samples by analytical atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, 103, 1-14, 2012.
6. GONG, Z. L.; LU, X. F.; MA, M. S.; WATT, C.; LE, X. C. Arsenic speciation analysis. **Talanta**, 58, 77-96, 2002.
7. KOPLIK, R.; CURDOVA, E.; MESTEK, O. Trace element speciation in water, soils, sediments and biological materials. **Chemicke Listy**, 91, 38-47, 1997.
8. LEERMAKERS, M.; BAEYENS, W.; QUEVAUVILLER, P.; HORVAT, M. Mercury in environmental samples: Speciation, artifacts and validation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 24, 383-393, 2005.
9. SZPUNAR, J. Bio-inorganic speciation analysis by hyphenated techniques. **Analyst**, 125, 963-988, 2000.
10. HARRINGTON, C. F.; CLOUGH, R.; HILL, S. J.; MADRID, Y.; TYSON, J. F. Atomic spectrometry update: review of advances in elemental speciation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 1427-1468, 2015.
11. SPERLING, M.; KARST, U. Advances in speciation techniques and methodology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 104, 1-3, 2018.
12. TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L. G.; MUNTAU, H.; VAN LEEUWEN, H. P.; LOBINSKI, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000). **Pure and Applied Chemistry**, 72, 1453-1470, 2000.

13. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: http://goldbook.iupac.org (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook. Last update 24/02/2014, version 2.3.3. Acessado em: 07/04/2016.

14. TEMPLETON, D. M.; FUJISHIRO, H. **Terminology of elemental speciation – An IUPAC perspective Coordination Chemistry Reviews**, 352, 424-431, 2017.

15. HARTWIG, C. A.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; MÜLLER, A. L. H.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. Determination of bromine and iodine in shrimp and its parts by ICP-MS after decomposition using microwave-induced combustion. **Analytical Methods**, 6, 7540-7546, 2014.

16. TORALLES, I. G.; COELHO Jr., G. S.; COSTA, V. C.; CRUZ, S. M.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. A fast and feasible method for Br and I determination in whole egg powder and its fractions by ICP-MS. **Food Chemistry**, 221, 877-883, 2017.

17. GLEYZES, C.; TELLIER, S.; ASTRUC, M. Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 21, 451-467, 2002.

18. RAO, C. R. M.; SAHUQUILLO, A.; SANCHEZ, J. F. L. A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. **Water Air and Soil Pollution**, 189, 291-333, 2008.

19. ISSARO, N.; ABI-GHANEM, C.; BERMOND, A. Fractionation studies of mercury in soils and sediments: A review of the chemical reagents used for mercury extraction. **Analytica Chimica Acta**, 631, 1-12, 2009.

20. FEDOTOV, P. S. Rotating coiled columns in the speciation analysis of natural samples: Dynamic fractionation of element forms in soils, sludges, and bottom sediments. **Journal Analytical Chemistry**, 67, 399-413, 2012.

21. WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; STELMACH, E.; POHL, P. Speciation and fractionation of elements in tea infusions. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 42, 349-365, 2012.

22. OLIVAS, R. M.; CÁMARA, C.; BOUYSSIERE, B.; SZPUNAR, J.; POTIN-GAUTIER, M.; LOBINSKI, R.; HLAVAY, J.; POLYÁK, K. **Sample Preparation**. In: Cornelis, R., Crews, H., Caruso, J., Heumann, K., Eds., **Handbook of elemental speciation: techniques and methodology**: John Wiley & Sons, Ltd, 2004. p. 73-146.

23. GONZALVEZ, A.; CERVERA, M. L.; ARMENTA, S.; DE LA GUARDIA, M. A review of non-chromatographic methods for speciation analysis. **Analytica Chimica Acta**, 636, 129-157, 2009.

24. CAVICCHIOLI, A.; LA-SCALEA, M. A.; GUTZ, I. G. R. Analysis and speciation of traces of arsenic in environmental food and industrial samples by voltammetry: a review. **Electroanalysis**, 16, 697-711, 2004.

25. NEARING, M. M.; KOCH, I.; REIMER, K. J. Complementary arsenic speciation methods: A review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 99, 150-162, 2014.

26. WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. Comparison of strategies for sample preparation prior to spectrometric measurements for determination and speciation of arsenic in rice. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 65, 122-136, 2015.

27. DIETZ, C.; SANZ, J.; SANZ, E.; MUNOZ-OLIVAS, R.; CAMARA, C. Current perspectives in analyte extraction strategies for tin and arsenic speciation. **Journal of Chromatography A**, 1153, 114-129, 2007.

28. RADKE, B.; JEWELL, L.; NAMIESNIK, J. Analysis of arsenic species in environmental samples. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 42, 162-183, 2012.

29. MAHER, W. A.; ELLWOOD, M. J.; KRIKOWA, F.; RABER, G.; FOSTER, S. Measurement of arsenic species in environmental, biological fluids and food samples by HPLC--ICPMS and HPLC-HG-AFS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 2129-2183, 2015.

30. NIEGEL, C.; MATYSIK, F. M. Analytical methods for the determination of arsenosugars--A review of recent trends and developments. **Analytica Chimica Acta**, 657, 83-99, 2010.

31. ELLIS, L. A.; ROBERTS, D. J. Chromatographic and hyphenated methods for elemental speciation analysis in environmental media. J**ournal of Chromatography A**, 774, 3-19, 1997.

32. POPP, M.; HANN, S.; KOELLENSPERGER, G. Environmental application of elemental speciation analysis based on liquid or gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry-A review. **Analytica Chimica Acta**, 668, 114-129, 2010.

33. WUILLOUD, J. C. A.; WUILLOUD, R. G.; VONDERHEIDE, A. P.; CARUSO, J. A. Gas chromatography/plasma spectrometry - an important analytical tool for elemental speciation studies. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 59, 755-792, 2004.

34. LEERMAKERS, M.; BAEYENS, W.; DE GIETER, M.; SMEDTS, B.; MEERT, C.; DE BISSCHOP, H. C.; MORABITO, R.; QUEVAUVILLER, P. Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 25, 1-10, 2006.

35. BOUYSSIERE, B.; SZPUNAR, J.; LOBINSKI, R. Gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection in speciation analysis. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 57, 805-828, 2002.

36. PENA-PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 64, 1-15, 2009.

37. JABLONSKA-CZAPLA, M. Arsenic, antimony, chromium, and thallium speciation in water and sediment samples with the LC-ICP-MS technique. **International Journal of Analytical Chemistry**, 1-13, 2015.

38. SCANCAR, J.; MILACIC, R. A critical overview of Cr speciation analysis based on high performance liquid chromatography and spectrometric techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 29, 427-443, 2014.

39. BOUYSSIERE, B.; SZPUNAR, J.; LESPES, G.; LOBINSKI, R. Gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection (GC-ICP MS). **Advances in Chromatography**, 42, 107-137, 2003.

40. RUTKOWSKA, M.; DUBALSKA, K.; KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J. Microextraction techniques used in the procedures for determining organomercury and organotin compounds in environmental samples. **Molecules**, 19, 7581-7609, 2014.

41. LEOPOLD, K.; FOULKES, M.; WORSFOLD, P. Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters-A review. **Analytica Chimica Acta**, 663, 127-138, 2010.

42. FERREIRA, S. L. C.; LEMOS, V. A.; SILVA, L. O. B.; QUEIROZ, A. F. S.; SOUZA, A. S.; SILVA, E. G. P.; SANTOS, W. N. L.; VIRGENS, C. F. Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices - A review. **Microchemical Journal**, 121, 227-236, 2015.

43. CLEMENS, S.; MONPERRUS, M.; DONARD, O. F. X.; AMOUROUX, D.; GUERIN, T. Mercury speciation in seafood using isotope dilution analysis: A review. **Talanta**, 89, 12-20, 2012.

44. MKRONG, P.; MERCIER, P. H. J.; MESTER, Z. Selenium analysis in waters. Part 2: Speciation methods. **Science of The Total Environment**, 640–641, 1 1635-1651, 2018.

45. MIEKELEY, N.; MORTARI, S.; SCHUBACH, A. Monitoring of total antimony and its species by ICP-MS and on-line ion chromatography in biological samples from patients treated for leishmaniasis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 372, 495-502, 2002.

46. SÉBY, F.; GLEYZES, C.; GROSSO, O.; PLAU, B.; DONARD, O. F. X. Speciation of antimony in injectable drugs used for leishmaniasis treatment (Glucantime®) by HPLC-ICP-MS and DPP. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 404, 2939-2948, 2012.

47. DZAMITIKA, S. A.; FALCÃO, C. A. B.; DE OLIVEIRA, F. B.; MARBEUF, C.; GARNIER-SUILLEROT, A.; DEMICHELI, C.; ROSSI-BERGMANN, B.; FRÉZARD, F. Role of residual Sb(III) in meglumine antimoniate cytotoxicity and MRP1-mediated resistance. **Chemico-Biological Interactions**, 160, 217-224, 2006.

48. HANSEN, H. R.; PERGANTIS, S. A. Analytical techniques and methods used for antimony speciation analysis in biological matrices. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 23, 1328-1340, 2008.

49. CHEN, Z. L.; OWENS, G. Trends in speciation analysis of vanadium in environmental samples and biological fluids—A review. **Analytica Chimica Acta**, 607, 1-14, 2008.

50. FERRARELLO, C. N.; BAYON, M. M.; DE LA CAMPA, R. F.; SANZ-MEDEL, A. Multi-elemental speciation studies of trace elements associated with metallothionein-like proteins in mussels by liquid chromatography with inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometric detection. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 15, 1558-1563, 2000.

51. FERRARELLO, C. N.; DE LA CAMPA, M. R. F.; CARRASCO, J. F.; SANZ-MEDEL, A. Speciation of metallothionein-like proteins of the mussel mytilus edulis at basal levels by chromatographic separations coupled to quadrupole and double-focusing magnetic sector ICPMS. **Analytical Chemistry**, 72, 5874-5880, 2000.

52. KRÄMER, U.; CHARDONNENS, A. The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 55, 661-672, 2001.

53. LE, X. C.; LI, X. F.; LAI, V.; MA, M.; YALCIN, S.; FELDMANN, J. Simultaneous speciation of selenium and arsenic using elevated temperature liquid chromatography separation with inductively coupled plasma mass spectrometry detection1. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 53, 899-909, 1998.

54. ALONSO, J. I. G.; ENCINAR, J. R. **Separation techniques - gas chromatography and other based methods**. In: Cornelis, R., Crews, H., Caruso, J., Heumann, K., Eds., Handbook of elemental speciation: techniques and methodology, Chichester: John Wiley & Sons, 2003. p. 147-239.

55. GOMEZ-ARIZA, J. L.; MORALES, E.; GIRALDEZ, I.; SANCHEZ-RODAS, D. **Sample treatment and storage in speciation analysis**. In: L. Ebdon, L. Pitts, R. Cornelis, H. Crews, O. F. X. Donard, P. Quevauville, Eds., Trace Element Speciation for Environment, Food and Health, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2001. p. 51-80.

56. OLIVEIRA, R. D.; SANTELLI, R. E. Occurrence and chemical speciation analysis of organotin compounds in the environment: A review. **Talanta**, 82, 9-24, 2010.

57. MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C. R.; KRUPP, E.; AMOUROUX, D.; DONARD, O. F. X. Application of isotopically labeled methylmercury for isotope dilution analysis of biological samples using gas chromatography/ICPMS. **Analytical Chemistry**, 74, 2505-2512, 2002.

58. ORTIZ, A. I. C.; ALBARRAN, Y. M.; RICA, C. C. Evaluation of different sample pre--treatment and extraction procedures for mercury speciation in fish samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 17, 1595-1601, 2002.

59. AMARAL, C. D. B.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Investigation of arsenic species stability by HPLC-ICP-MS in plants stored under different conditions for 12 months. **Microchemical Journal**, 117, 122-126, 2014.

60. SCHMIDT, L.; BIZZI, C. A.; DUARTE, F. A.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Evaluation of drying conditions of fish tissues for inorganic mercury and methylmercury speciation analysis. **Microchemical Journal**, 108, 53-59, 2013.

61. LUM, J. TSZ-SHAM; LEUNG, K. SZE-YIN. Current trends in atomic mass spectrometry for the speciation and imaging of metal-based nanomaterials. **Journal Analutical Atomic Spectrometry**, 32, 2127-2139, 2017.

62. WROBEL, K.; KANNAMKUMARATH, S.; WROBEL, K.; CARUSO, J. A. Environmentally friendly sample treatment for speciation analysis by hyphenated techniques. **Green Chemistry**, 5, 250-259, 2003.

63. MICHALKE, B. The coupling of LC to ICP-MS in element speciation: I. General aspects. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 21, 142-153, 2002.

64. MICHALKE, B. The coupling of LC to ICP-MS in element speciation - Part II: Recent trends in application. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 21, 154-165, 2002.

65. MICHALKE, B. **Capillary electrophoresis in speciation analysis**. In: Cornelis, R., Crews, H., Caruso, J., Heumann, K., Eds., Handbook of elemental speciation: techniques and methodology, Chichester: John Wiley & Sons, 2003. p. 201-223.

66. LOBINSKI, R. Elemental speciation and coupled techniques. **Applied Spectroscopy**, 51, A260-A278, 1997.

67. LOBINSKI, R.; ADAMS, F. C. Speciation analysis by gas chromatography with plasma source spectrometric detection. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 52, 1865-1903, 1997.

68. VANHAECKE, F.; MOENS, L. Recent trends in trace element determination and speciation using inductively coupled plasma mass spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 364, 440-451, 1999.

69. WADDELL, R.; LEWIS, C.; HANG, W.; HASSELL, C.; MAJIDI, V. Inductively coupled plasma mass spectrometry for elemental speciation: Applications in the new millennium. **Appl. Spectrosc. Rev.**, 40, 33-69, 2005.

70. MESKO, M. F.; HARTWIG, C. A.; BIZZI, C. A.; MÜLLER, E. I.; DUARTE, F. A.; MELLO, P. A. **Separation techniques for elemental speciation in soil, sediments and environmental samples**. In: Bakirdere, S., Ed., Speciation studies in soil, sediment and environmental samples, Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 202-241.

71. MARYUTINA, T; TIMERBAEV, A. R. Metal speciation analysis of petroleum: Myth or reality? **Analytica Chimica Acta**, 991, 1-8, 2017.

72. SAMA, S. G.; BARRÈRE-MANGOTE, C.; BOUYSSIÈRE, B.; GIUSTI, P.; LOBINSKI, R. Recent trends in element speciation analysis of crude oils and heavy petroleum fractions. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 104, 69-76, 2018.

73. MARCINKOWSKA, M.; BARALKIEWICZ, D. Multielemental speciation analysis by advanced hyphenated technique – HPLC/ICP-MS: A review. **Talanta**, 161, 177-204, 2016.

74. GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; CERVERA, M. L.; DE LA GUARDIA, M. Non-chromatographic speciation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 29, 260-268, 2010.

75. FELDMANN, J. What can the different current-detection methods offer for element speciation? **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 24, 228-242, 2005.

76. MARSCHNER, K.; MUSIL, S.; DEDINA, J. Achieving 100% efficient postcolumn hydride generation for As speciation analysis by atomic fluorescence spectrometry. **Analytical Chemistry**, 88, 4041-4047, 2016.

77. FERREIRA, S. L. C.; SANTOS, W. N. L.; SANTOS, I. F.; JUNIOR, M. M. S.; SILVA, L. O. B.; BARBOSA, U. A.; SANTANA, F. A.; QUEIROZ, A. F. D. Strategies of sample preparation for speciation analysis of inorganic antimony using hydride generation atomic spectrometry. **Microchemical Journal**, 114, 22-31, 2014.

78. STURGEON, R. E.; GUO, X.; MESTER, Z. Chemical vapor generation: are further advances yet possible? **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 382, 881-883, 2005.

79. RAPSOMANIKIS, S. Derivatization by ethylation with sodium tetraethylborate for the speciation of metals and organometallics in environmental-samples - A review. **Analyst**, 119, 1429-1439, 1994.

80. STURGEON, R. E.; FRANCESCONI, K. A. Enhancing reliability of elemental speciation results - quo vadis? **Environmental Chemistry**, 6, 294-297, 2009.

81. RAAB, A.; GENNEY, D. R.; MEHARG, A. A.; FELDMANN, J. Identification of arsenic species in sheep-wool extracts by different chromatographic methods. **Applied Organometallic Chemistry**, 17, 684-692, 2003.

82. FLORES, E. L. M.; PANIZ, J. N. G.; FLORES, E. M. M.; POZEBON, D.; DRESSLER, V. L. Mercury speciation in urban landfill leachate by cold vapor generation atomic absorption spectrometry using ion exchange and amalgamation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 20, 1659-1666, 2009.

83. DUARTE, F. A.; PEREIRA, J. S. F.; MESKO, M. F.; GOLDSCHMIDT, F.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L. Evaluation of liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry for arsenic speciation in water from industrial treatment of shale. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 62, 978-984, 2007.

84. PAVAGEAU, M. P.; KRUPP, E.; DIEGO, A.; PÉCHEYRAN, C.; DONARD, O. F. X. **Cryogenic trapping for speciation analysis**. In: Mester, Z., Sturgeon, R., Ed., Comprehensive Analytical Chemistry. Sample preparation for trace element analysis, Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 495-531.

85. SANCHEZ-RODAS, D.; DE LA CAMPA, A. M. S.; ALSIOUFI, L. Analytical approaches for arsenic determination in air: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, 898, 1-18, 2015.

86. ANTONIO, M.-P.; JORGE, M.-P.; PILAR, B.-B. **Sample pre-treatment methods for organometallic species determination**. In: Bakirdere, S., Ed., Speciation studies in soil, sediment and environmental samples: CRC Press, 2013. p. 19-201.

87. BÉNI, A.; KAROSI, R.; POSTA, J. Speciation of hexavalent chromium in waters by liquid-liquid extraction and GFAAS determination. **Microchemical Journal**, 85, 103-108, 2007.

88. GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 50, 78-84, 2013.

89. PENA-PEREIRA, F.; KLOSKOWSKI, A.; NAMIESNIK, J. Perspectives on the replacement of harmful organic solvents in analytical methodologies: a framework toward the implementation of a generation of eco-friendly alternatives. **Green Chemistry**, 17, 3687-3705, 2015.

90. SPIETELUN, A.; MARCINKOWSKI, Ł.; DE LA GUARDIA, M.; NAMIEŚNIK, J. Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. **Talanta**, 119, 34-45, 2014.

91. ESCUDERO, L. B.; MANIERO, M. A.; AGOSTINI, E.; SMICHOWSKI, P. N. Biological substrates: Green alternatives in trace elemental preconcentration and speciation analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 80, 531-546, 2016.

92. HU, B.; HE, M.; CHEN, B.; XIA, L. Liquid phase microextraction for the analysis of trace elements and their speciation. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 86, 14-30, 2013.

93. PENA-PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Miniaturized preconcentration methods based on liquid–liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 64, 1-15, 2009.

94. CHAMSAZ, M.; ARBAB-ZAVAR, M. H.; NAZARI, S. Determination of arsenic by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace liquid phase microextraction after in situ hydride generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 18, 1279-1282, 2003.

95. COLOMBINI, V.; BANCON-MONTIGNY, C.; YANG, L.; MAXWELL, P.; STURGEON, R. E.; MESTER, Z. Headspace single-drop microextration for the detection of organotin compounds. **Talanta**, 63, 555-560, 2004.

96. FAN, Z.; LIU, X. Determination of methylmercury and phenylmercury in water samples by liquid–liquid–liquid microextraction coupled with capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, 1180, 187-192, 2008.

97. LI, L.; HU, B. Hollow-fibre liquid phase microextraction for separation and preconcentration of vanadium species in natural waters and their determination by electrothermal vaporization-ICP-OES. **Talanta**, 72, 472-479, 2007.

98. SOARES, B. M.; PEREIRA, E. R.; MACIEL, J. V.; VIEIRA, A. A.; DUARTE, F. A. Assessment of dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous extraction, preconcentration, and derivatization of Hg2+ and CH3Hg+ for further determination by GC--MS. **Journal Separation Science**, 36, 3411-3418, 2013.

99. REZAEE, M.; ASSADI, Y.; MILANI HOSSEINI, M.-R.; AGHAEE, E.; AHMADI, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, 1116, 1-9, 2006.

100. CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, 34, 1604-1617, 2011.

101. ANTHEMIDIS, A. N.; MITANI, C. Advances in liquid phase micro-extraction techniques for metal, metalloid and organometallic species determination. **Current Analytical Chemistry**, 9, 250-278, 2013.

102. SAMADDAR, P.; SEN, K. Cloud point extraction: A sustainable method of elemental preconcentration and speciation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 20, 1209-1219, 2014.

103. ALARCÓN, F.; BUSTAMANTE, R.; QUIROZ, W.; AGUILAR, L. F.; BRAVO, M. A. Evaluation of cloud point extraction coupled with fluorescence spectroscopy and multivariate curve resolution-alternating least squares for tributyltin determination in sediment samples. **Microchemical Journal**, 124, 132-138, 2016.

104. TADAYON, F.; MEHRANDOOST, S. Determination and speciation of Se(IV), Se(VI), and selenomethionine in iranian walnut samples by spectrophotometry after cloud point extraction. **Journal of Analytical Chemistry**, 70, 1336-1341, 2015.

105. HU, B.; HE, M.; CHEN, B. Nanometer-sized materials for solid-phase extraction of trace elements. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 407, 2685-2710, 2015.

106. BENDICHO, C.; BENDICHO-LAVILLA, C.; LAVILLA, I. Nanoparticle-assisted chemical speciation of trace elements. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 77, 109-121, 2016.

107. HE, M.; CHEN, B.; HU, B. Recent developments in stir bar sorptive extraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 406, 2001-2026, 2014.

108. BARKER, S. A.; LONG, A. R.; SHORT, C. R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. **Journal of Chromatography A**, 475, 353-361, 1989.

109. MOREDA-PINEIRO, A.; PENA-VAZQUEZ, E.; HERMELO-HERBELLO, P.; BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PINEIRO, J.; ALONSO-RODRIGUEZ, E.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; LOPEZ-MAHIA, P.; PRADA-RODRIGUEZ, D. Matrix solid--phase dispersion as a sample pretreatment for the speciation of arsenic in seafood products. **Analytical Chemistry**, 80, 9272-9278, 2008.

110. DUARTE, F. A.; SOARES, B. M.; VIEIRA, A. A.; PEREIRA, E. R.; MACIEL, J. V.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Assessment of modified matrix solid-phase dispersion as sample preparation for the determination of CH_3Hg^+ and Hg^{2+} in fish. **Analytical Chemistry**, 85, 5015-5022, 2013.

111. MOREDA-PIÑEIRO, J.; ALONSO-RODRÍGUEZ, E.; ROMARÍS-HORTAS, V.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; BERMEJO-BARRERA, P. Assessment of the bioavailability of toxic and non-toxic arsenic species in seafood samples. **Food Chemistry**, 130, 552-560, 2012.

112. DENG, D.; ZHANG, S.; CHEN, H.; YANG, L.; YIN, H.; HOU, X.; ZHENG, C. Online solid sampling platform using multi-wall carbon nanotube assisted matrix solid phase ispersion for mercury speciation in fish by HPLC-ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 30, 882-887, 2015.

113. ZHU, S.; HU, F.; YANG, T.; GAN, N.; PAN, D.; CAO, Y.; WU, D. Synthesis and characterization of a molecularly imprinted polymer for the determination of trace tributyltin in seawater and seafood by liquid chromatography-tandem mass spectroscopy. **Journal of Chromatography B**, 921-922, 21-26, 2013.

114. GALLEGO-GALLEGOS, M.; LIVA GARRIDO, M.; MUNOZ OLIVAS, R.; BARAVALLE, P.; BAGGIANI, C.; CAMARA, C. A new application of imprinted polymers: speciation of organotin compounds. **Journal of Chromatography A**, 1217, 3400-3407, 2010.

115. BUYUKTIRYAKI, S.; SAY, R.; DENIZLI, A.; ERSOZ, A. Mimicking receptor for methylmercury preconcentration based on ion-imprinting. **Talanta**, 71, 699-705, 2007.

116. TELFORD, K.; MAHER, W.; KRIKOWA, F.; FOSTER, S. Measurement of total antimony and antimony species in mine contaminated soils by ICPMS and HPLC-ICPMS. **J. Environ. Monit.**, 10, 136-140, 2008.

117. NAM, S.-H.; OH, H.-J.; MIN, H.-S.; LEE, J.-H. A study on the extraction and quantitation of total arsenic and arsenic species in seafood by HPLC–ICP-MS. **Microchemical Journal**, 95, 20-24, 2010.

118. SANTOS, C. M. M.; NUNES, M. A. G.; BARBOSA, I. S.; SANTOS, G. L.; PESO-AGUIAR, M. C.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L. Evaluation of microwave and ultrasound extraction procedures for arsenic speciation in bivalve mollusks by liquid chromatography–inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 86, 108-114, 2013.

119. SIWEK, M.; NOUBAR, A. B.; BERGMANN, J.; NIEMEYER, B.; GALUNSKY, B. Enhancement of enzymatic digestion of Antarctic krill and successive extraction of selenium organic compounds by ultrasound treatment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 384, 244-249, 2006.

120. BENDICHO, C.; DE LA CALLE, I.; PENA, F.; COSTAS, M.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 31, 50-60, 2012.

121. KRISHNA, M. V. B.; KARUNASAGAR, D. Robust ultrasound assisted extraction approach using dilute TMAH solutions for the speciation of mercury in fish and plant materials by cold vapour atomic absorption spectrometry (CVAAS). **Anal. Methods**, 7, 1997-2005, 2015.

122. BAYONA, J. M. Supercritical fluid extraction in speciation studies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 19, 107-112, 2000.

123. FERNÁNDEZ-ESCOBAR, I.; BAYONA, J. M. Supercritical fluid extraction of priority organotin contaminants from biological matrices. **Analytica Chimica Acta**, 355, 269-276, 1997.

124. FOY, G. P.; PACEY, G. E. Supercritical fluid extraction of mercury species. **Talanta**, 61, 849-853, 2003.

125. ZÚÑIGA, M. C.; JOVER, E.; ARANCIBIA, V.; BAYONA, J. M. Development of a methodology for the simultaneous determination of inorganic and organolead compounds using supercritical fluid extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry and its application to environmental matrices. **Talanta**, 80, 504-510, 2009.

126. FOY, G. P.; PACEY, G. E. Specific extraction of chromium(VI) using supercritical fluid extraction. **Talanta**, 51, 339-347, 2000.

127. GALLAGHER, P. A.; MURRAY, S.; WEI, X.; SCHWEGEL, C. A.; CREED, J. T. An evaluation of sample dispersion media used with accelerated solvent extraction for the extraction and recovery of arsenicals from LFB and DORM-2. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 17, 581-586, 2002.

128. WAHLEN, R.; CATTERICK, T. Simultaneous co-extraction of organometallic species of different elements by accelerated solvent extraction and analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry coupled to liquid and gas chromatography. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, 18, 211-217, 2004.

129. MOSCOSO-PEREZ, C.; MOREDA-PINEIRO, J.; LOPEZ-MAHIA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, E.; PRADA-RODRIGUEZ, D. Pressurized liquid extraction followed by high performance liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry for arsenic and selenium speciation in atmospheric particulate matter. **Journal of Chromatography A**, 1215, 15-20, 2008.

130. WASIK, A.; CIESIELSKI, T. Determination of organotin compounds in biological samples using accelerated solvent extraction, sodium tetraethylborate ethylation, and multicapillary gas chromatography-flame photometric detection. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 378, 1357-1363, 2004.

131. LAY JR, J. O.; LIYANAGE, R.; BORGMANN, S.; WILKINS, C. L. Problems with the "omics". **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 25, 1046-1056, 2006.

132. AARDEMA, M. J.; MACGREGOR, J. T. Toxicology and genetic toxicology in the new era of "toxicogenomics": impact of "-omics" technologies. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 499, 13-25, 2002.

133. MARCHANT, G. E. Toxicogenomics and toxic torts. **Trends in Biotechnology**, 20, 329-332, 2002.

134. MOUNICOU, S.; SZPUNAR, J.; LOBINSKI, R. Metallomics: the concept and methodology. **Chemical Society Reviews**, 38, 1119-1138, 2009.

135. DRESSLER, V. L.; ANTES, F. G.; MOREIRA, C. M.; POZEBON, D.; DUARTE, F. A. As, Hg, I, Sb, Se and Sn speciation in body fluids and biological tissues using hyphenated--ICP-MS techniques: A review. **International Journal of Mass Spectrometry**, 307, 149-162, 2011.

136. MONTES-BAYÓN, M.; SHARAR, M.; CORTE-RODRIGUEZ, M. Trends on (elemental and molecular) mass spectrometry based strategies for speciation and metallomics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 104, 4-10, 2018.

137. WOLF, C.; WENDA, N.; RICHTER, A.; KYRIAKOPOULOS, A. Alteration of biological samples in speciation analysis of metalloproteins. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 389, 799-810, 2007.

138. MESKO, M. F.; HARTWIG, C. A.; BIZZI, C. A.; PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M. Sample preparation strategies for bioinorganic analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, 307, 123-136, 2011.

139. MOUNICOU, S.; LOBINSKI, R. Challenges to metallomics and analytical chemistry solutions. **Pure and Applied Chemistry**, 80, 2565-2575, 2008.

140. LUQUE-GARCIA, J. L.; NEUBERT, T. A. Sample preparation for serum/plasma profiling and biomarker identification by mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1153, 259-276, 2007.

141. SHAW, M. M.; RIEDERER, B. M. Sample preparation for two-dimensional gel electrophoresis. **Proteomics**, 3, 1408-1417, 2003.

142. SUN, W.; GAO, S.; WANG, L.; CHEN, Y.; WU, S.; WANG, X.; ZHENG, D.; GAO, Y. Microwave-assisted protein preparation and enzymatic digestion in proteomics. **Molecular & Cellular Proteomics**, 5, 769-776, 2006.

143. RIGUEIRA, L. M. B.; COSTA, L. M.; LANA, D. A. P. D.; AUGUSTI, R.; CASTRO PIMENTA, A. M.; SANTOS, D. M. Identification of metal-binding to proteins in seed samples using RF-HPLC-UV, GFAAS and MALDI-TOF-MS. **Food Chemistry**, 211,910-915, 2016.

144. NUEVO ORDOÑEZ, Y.; MONTES-BAYÓN, M.; BLANCO-GONZÁLEZ, E.; SANZ-MEDEL, A. Quantitative analysis and simultaneous activity measurements of Cu, Zn--superoxide dismutase in red blood cells by HPLC–ICPMS. **Analytical Chemistry**, 82, 2387-2394, 2010.

145. LEOPOLD, I.; FRICKE, B. Inhibition, reactivation, and determination of metal ions in membrane metalloproteases of bacterial origin using high-performance liquid chromatography coupled on-line with inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**, 252, 277-285, 1997.

146. MATUSIEWICS, H. **Wet digestion methods**. In: Mester, Z., Sturgeon, R., Eds., Sample preparation for trace element analysis, Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 193–233.

147. FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KNAPP, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels — A brief overview and recent applications. S**pectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 62, 1051-1064, 2007.

148. GARCÍA-SEVILLANO, M. A.; RODRÍGUEZ-MORO, G.; GARCÍA-BARRERA, T.; NAVARRO, F.; GÓMEZ-ARIZA, J. L. Biological interactions between mercury and selenium in distribution and detoxification processes in mice under controlled exposure. Effects on selenoprotein. **Chemico-Biological Interactions**, 229, 82-90, 2015.

149. ROPERO, M. J. P.; FARIÑAS, N. R.; KRUPP, E.; MATEO, R.; NEVADO, J. J. B.; MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C. R. Mercury and selenium binding biomolecules in terrestrial mammals (Cervus elaphus and Sus scrofa) from a mercury exposed area. **Journal of Chromatography B**, 1022, 159-166, 2016.

150. MAGALHÃES, C. S.; GARCIA, J. S.; LOPES, A. S.; ARRUDA, M. A. Z. **Strategies for sample preparation focusing on biomolecules determination/characterization**. In: Arruda, M. A. Z., Ed., Trends in Sample Preparation, New York: Nova Science Publishers Inc., 2007. p. 245-288.

151. TRAN, M. Q. T.; NYGREN, Y.; LUNDIN, C.; NAREDI, P.; BJÖRN, E. Evaluation of cell lysis methods for platinum metallomic studies of human malignant cells. **Analytical Biochemistry**, 396, 76-82, 2010.

152. PEDRERO, Z.; MADRID, Y.; CAMARA, C.; SCHRAM, E.; LUTEN, J. B.; FELDMANN, I.; WAENTIG, L.; HAYEN, H.; JAKUBOWSKI, N. Screening of selenium containing proteins in the Tris-buffer soluble fraction of African catfish (Clarias gariepinus) fillets by laser ablation-ICP-MS after SDS-PAGE and electroblotting onto membranes. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 24, 775-784, 2009.

153. CAÑAS, B.; PIÑEIRO, C.; CALVO, E.; LÓPEZ-FERRER, D.; GALLARDO, J. M. Trends in sample preparation for classical and second generation proteomics. **Journal of Chromatography A**, 1153, 235-258, 2007.

154. CHASSAIGNE, H.; CHERY, C. C.; BORDIN, G.; VANHAECKE, F.; RODRIGUEZ, A. R. 2-Dimensional gel electrophoresis technique for yeast selenium-containing proteins--sample preparation and MS approaches for processing 2-D gel protein spots. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 19, 85-95, 2004.

155. BOTELHO, D.; WALL, M. J.; VIEIRA, D. B.; FITZSIMMONS, S.; LIU, F.; DOUCETTE, A. top-down and bottom-up proteomics of sds-containing solutions following mass-based separation. **Journal of Proteome Research**, 9, 2863-2870, 2010.

156. WROBEL, K.; KANNAMKUMARATH, S. S.; WROBEL, K.; CARUSO, J. A. Hydrolysis of proteins with methanesulfonic acid for improved HPLC-ICP-MS determination of seleno-methionine in yeast and nuts. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 375, 133-138, 2003.

157. HOVING, S.; GERRITS, B.; VOSHOL, H.; MÜLLER, D.; ROBERTS, R. C.; VAN OOSTRUM, J. Preparative two-dimensional gel electrophoresis at alkaline pH using narrow range immobilized pH gradients. **Proteomics**, 2, 127-134, 2002.

158. SZPUNAR, J.; BOUYSSIERE, B.; LOBINSKI, R. S**ample preparation for speciation analysis for metallobiomolecules**. In: Mester, Z., Sturgeon, R., Eds., Sample Preparation for Trace Element Analysis, Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 1185–1210.

159. STEFÁNKA, Z.; IPOLYI, I.; DERNOVICS, M.; FODOR, P. Comparison of sample preparation methods based on proteolytic enzymatic processes for Se-speciation of edible mushroom (Agaricus bisporus) samples. **Talanta**, 55, 437-447, 2001.

160. CARUSO, J. A.; HEITKEMPER, D. T.; B'HYMER, C. An evaluation of extraction techniques for arsenic species from freeze-dried apple samples. **Analyst**, 126, 136-140, 2001.

161. CHEN, Y.; GUO, Z.; WANG, X.; QIU, C. Sample preparation. **Journal of Chromatography A**, 1184, 191-219, 2008.

162. SMITH, F. E.; ARSENAULT, E. A. Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry. **Talanta**, 43, 1207-1268, 1996.

163. LUQUE-GARCÍA, J. L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Where is microwave-based analytical equipment for solid sample pre-treatment going? **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 22, 90-98, 2003.

164. PEACHEY, E.; MCCARTHY, N.; GOENAGA-INFANTE, H. Acceleration of enzymatic hydrolysis of protein-bound selenium by focused microwave energy. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 23, 487-492, 2008.

165. LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. **Analytical applications of ultrasound**. Oxford: Elsevier, 2007. 350 p.

166. MAGALHÃES, C. S.; ARRUDA, M. A. Z. Sample preparation for metalloprotein analysis: A case study using horse chestnuts. **Talanta**, 71, 1958-1963, 2007.

167. CAPELO, J. L.; XIMÉNEZ-EMBÚN, P.; MADRID-ALBARRÁN, Y.; CÁMARA, C. Enzymatic probe sonication: enhancement of protease-catalyzed hydrolysis of selenium bound to proteins in yeast. **Analytical Chemistry**, 76, 233-237, 2004.

168. MITRA, S.; BRUKH, R. **Sample preparation: an analytical perspective**. In: Mitra, S., Ed., Sample preparation techniques in analytical chemistry, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2003. p. 1–304.

169. KEBBEKUS, B. B. **Preparation of samples for metals analysis**. In: Mitra, S., Ed., Sample preparation techniques in analytical chemistry, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2003. p. 227–264.

170. KINNIBURGH, D. G.; KOSMUS, W. Arsenic contamination in groundwater: some analytical considerations. **Talanta**, 58, 165-180, 2002.

171. SAFARZADEH-AMIRI, A.; FOWLIE, P.; KAZI, A. I.; SIRAJ, S.; AHMED, S.; AKBOR, A. Validation of analysis of arsenic in water samples using Wagtech Digital Arsenator. **Science of the Total Environment**, 409, 2662-2667, 2011.

172. CHEAM, V.; AGEMIAN, H. Preservation of inorganic arsenic species at microgram levels in water samples. **Analyst**, 105, 737-743, 1980.

173. FRANCESCONI, K. A.; KUEHNELT, D. Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000-2003. **Analyst**, 129, 373-395, 2004.

174. HORVAT, M. **Mercury analysis and speciation in environmental samples**. In: W. Baeyens, R. Ebinghaus, Vasiliev, O., Eds., Global and regional mercury cycles: sources, fluxes and mass balances, Netherlands: Kluwer Academic Puiblishers, 1996. p. 1-31.

175. BEGU, E.; SHLYAPNIKOV, Y.; STERGARSEK, A.; FRKAL, P.; KOTNIK, J.; HORVAT, M. A method for semi-continuous measurement of dissolved elemental mercury in industrial and natural waters. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 96, 609-626, 2016.

176. ZHANG, R.; PENG, M.; ZHENG, C.; XU, K.; HOU, X. Application of flow injection–green chemical vapor generation–atomic fluorescence spectrometry to ultrasensitive mercury speciation analysis of water and biological samples. **Microchemical Journal**, 127, 62-67, 2016.

177. EL ATI-HELLAL, M.; LESPES, G.; DACHRAOUI, M. Determination of organotins in aquatic plants by headspace SPME followed by GC-PFPD determination. International **Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 86, 733-742, 2006.

178. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Ambient aquatic life water quality criteria for Tributyltin (TBT)-final**, EPA 822-R-03-031, Washington, 2003. 175 p.

179. SMICHOWSKI, P.; MADRID, Y.; CAMARA, C. Analytical methods for antimony speciation in waters at trace and ultratrace levels. A review. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 360, 623-629, 1998.

180. ARIZA, J. L. G.; MORALES, E.; SANCHEZ-RODAS, D.; GIRALDEZ, I. Stability of chemical species in environmental matrices. T**rAC Trends in Analytical Chemistry**, 19, 200-209, 2000.

181. MARTÍNEZ-BRAVO, Y.; ROIG-NAVARRO, A. F.; LÓPEZ, F. J.; HERNÁNDEZ, F. Multielemental determination of arsenic, selenium and chromium(VI) species in water by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 926, 265-274, 2001.

182. MORAES, D. P.; SVOBODA, M.; MATOUSEK, T.; FLORES, E. M. M.; DEDINA, J. Selective generation of substituted arsines-cryotrapping-atomic absorption spectrometry for arsenic speciation analysis in N-methylglucamine antimonate. **Journal of Analytical tomic Spectrometry**, 27, 1734-1742, 2012.

183. DAVIS, W. C.; ZEISLER, R.; SIEBER, J. R.; YU, L. L. Methods for the separation and quantification of arsenic species in SRM 2669: arsenic species in frozen human urine. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 396, 3041-3050, 2010.

184. MOREIRA, C. M.; DUARTE, F. A.; LEBHERZ, J.; POZEBON, D.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L. Arsenic speciation in white wine by LC-ICP-MS. **Food Chemistry**, 126, 1406-1411, 2011.

185. LEE, C.-F.; CHEN, B.-H.; HUANG, Y.-L. Determining Cr(III) and Cr(VI) in urine using a flow injection on-line sorption separation system coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry and a UV/nano-Au/TiO2 photocatalysis reduction device. **Talanta**, 77, 546-550, 2008.

186. DRESSLER, V. L.; SANTOS, C. M. M.; ANTES, F. G.; BENTLIN, F. R. S.; POZEBON, D.; FLORES, E. M. M. Total mercury, inorganic mercury and methyl mercury determination in red wine. **Food Analytical Methods**, 5, 505-511, 2012.

187. BLASZKEWICZ, M.; BAUMHOER, G.; NEIDHART, B. Determination of trialkyllead species in urine. **Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie**, 325, 129-135, 1986.

188. SEBY, F.; GLEYZES, C.; GROSSO, O.; PLAU, B.; DONARD, O. F. Speciation of antimony in injectable drugs used for leishmaniasis treatment (Glucantime(R)) by HPLC-ICP--MS and DPP. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 404, 2939-2948, 2012.

189. FLORES, E. M. M.; SANTOS, E. P.; BARIN, J. S.; ZANELLA, R.; DRESSLER, V. L.; BITTENCOURT, C. F. Determination of antimony(III) and total antimony by hydride generation atomic absorption spectrometry in samples of injectable drugs used for leishmaniasis treatment. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 17, 819-823, 2002.

190. GAMMELGAARD, B.; MADSEN, K. G.; BJERRUM, J.; BENDAHL, L.; JONS, O.; OLSEN, J.; SIDENIUS, U. Separation, purification and identification of the major selenium metabolite from human urine by multi-dimensional HPLC-ICP-MS and APCI-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 18, 65-70, 2003.

191. PIZARRO, I.; GOMEZ, M.; CAMARA, C.; PALACIOS, M. A. Arsenic speciation in environmental and biological samples - Extraction and stability studies. **Analytica Chimica Acta**, 495, 85-98, 2003.

192. NARUKAWA, T.; INAGAKI, K.; KUROIWA, T.; CHIBA, K. The extraction and speciation of arsenic in rice flour by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, 77, 427-432, 2008.

193. YASUI, A.; TSUTSUMI, C.; TODA, S. Selective determination of inorganic arsenic (III), (V) and organic arsenic in biological-materials by solvent extraction atomic absorption spectrophotometry. **Agricultural and Biological Chemistry**, 42, 2139-2145, 1978.

194. BLUEMLEIN, K.; RAAB, A.; FELDMANN, J. Stability of arsenic peptides in plant extracts: off-line versus on-line parallel elemental and molecular mass spectrometric detection for liquid chromatographic separation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 393, 357-366, 2009.

195. JEDYNAK, L.; KOWALSKA, J.; HARASIMOWICZ, J.; GOLIMOWSKI, J. Speciation analysis of arsenic in terrestrial plants from arsenic contaminated area. **Science of the Total Environment**, 407, 945-952, 2009.

196. AMARAL, C. D. B.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Sample preparation for arsenic speciation in terrestrial plants-A review. **Talanta**, 115, 291-299, 2013.

197. QUEVAUVILLER, P.; DONARD, O. F. X.; WASSERMAN, J. C.; MARTIN, F. M.; SCHNEIDER, J. Occurrence of methylated tin and dimethyl mercury compounds in a mangrove core from Sepetiba Bay, Brazil. **Applied Organometallic Chemistry**, 6, 221-228, 1992.

198. BAEYENS, W. Speciation of mercury in different compartments of the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 11, 245-254, 1992.

199. HARRINGTON, C. F. The speciation of mercury and organomercury compounds by using high-performance liquid chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 19, 167-179, 2000.

200. MUHAYA, B. B. M.; LEERMAKERS, M.; BAEYENS, W. Influence of sediment preservation on total mercury and methylmercury analyses. **Water Air and Soil Pollution**, 107, 277-288, 1998.

201. BRALATEI, E.; LACAN, S.; KRUPP, E. M.; FELDMANN, J. Detection of inorganic arsenic in rice using a field test kit: a screening method. **Analytical Chemistry**, 87, 11271-11276, 2015.

202. SCHMIDT, L.; LANDERO, J. A.; NOVO, D. R.; DUARTE, F. A.; MESKO, M. F.; CARUSO, J. A.; FLORES, E. M. M . A feasible method for As speciation in several types of seafood by LC-ICP-MS/MS. **Food Chemistry**, 255, 340-347, 2018.

203. SCHMIDT, L.; LANDERO, J. A.; SANTOS, R. F.; MESKO, M. F.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M.; CARUSO, J. A. Arsenic speciation in seafood by LC-ICP-MS/MS: method development and influence of culinary treatment. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 32, 1490-1499, 2017.

204. CHEN, L. Q.; GUO, Y. F.; YANG, L. M.; WANG, Q. Q. SEC-ICP-MS and ESI-MS/MS for analyzing in vitro and in vivo Cd-phytochelatin complexes in a Cd-hyperaccumulator Brassica chinensis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 22, 1403-1408, 2007.

205. NOVOTNIK, B.; ZULIANI, T.; SCANCAR, J.; MILACIC, R. Chromate in food samples: an artefact of wrongly applied analytical methodology? **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 28, 558-566, 2013.

206. MATOS, W. O.; NÓBREGA, J. A. Especiação de cromo em cimentos e derivados de cimento brasileiros. **Química Nova**, 32, 2094-2097, 2009.

207. SCHMIDT, L.; BIZZI, C. A.; DUARTE, F. A.; MULLER, E. I. ; KRUPP, E.; FELDMANN, J.; FLORES, E. M. M. Evaluation of Hg species after culinary treatments of fish. **Food Control**, 47, 413-419, 2015.

208. OLIVEIRA, A. F.; LANDERO, J.; KUBACHKA, K.; NOGUEIRA, A. R. A.; ZANETTI, M. A.; CARUSO, J. Development and application of a selenium speciation method in cattle feed and beef samples using HPLC-ICP-MS: evaluating the selenium metabolic process in cattle. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 31, 1034-1040, 2016.

209. VONDERHEIDE, A. P.; WROBEL, K.; KANNAMKUMARATH, S. S.; B'HYMER, C.; MONTES-BAYON, M.; DE LEON, C. P.; CARUSO, J. A. Characterization of selenium species in Brazil nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 5722-5728, 2002.

210. GHASEMI, E.; NAJAFI, N. M.; RAOFIE, F.; GHASSEMPOUR, A. Simultaneous speciation and preconcentration of ultra traces of inorganic tellurium and selenium in environmental samples by hollow fiber liquid phase microextraction prior to electrothermal atomic absorption spectroscopy determination. **Journal of Hazardous Materials**, 181, 491-496, 2010.

211. AMEREIH, S.; MEISEL, T.; KAHR, E.; WEGSCHEIDER, W. Speciation analysis of inorganic antimony in soil using HPLC-ID-ICP-MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 383, 1052-1059, 2005.

212. POZZI, C. M. C.; BRAGA, C. P.; VIEIRA, J. C. S.; CAVECCI, B.; QUEIROZ, J. V.; BARBOSA, H. S.; ARRUDA, M. A. Z.; GOZZO, F. C.; PADILHA, P. M. Metal ions bound to the human milk immunoglobulin A: Metalloproteomic approach. **Food Chemistry**, 166, 492-497, 2015.

213. SANTOS, J. C.; MOLLO, P. C.; GUIDUGLI, R. B. F.; EBERLIN, M. N.; PESSOA, G. D.; SILVA, E. G.; ARRUDA, M. A. Z.; HOEHR, N. F. Metals and (metallo) proteins identification in vitreous humor focusing on post-mortem biochemistry. **Metallomics**, 6, 1801-1807, 2014.

214. SCHROEDER, W. H.; JACKSON, R. An instrumental analytical technique for vapor--phase mercury species in air. **Chemosphere**, 13, 1041-1051, 1984.

215. PECHEYRAN, C.; QUETEL, C. R.; LECUYER, F. M. M.; DONARD, O. F. X. Simultaneous determination of volatile metal (Pb, No, Sn, In, Ga) and nonmetal species (Se, P, As) in different atmospheres by cryofocusing and detection by ICPMS. **Analytical Chemistry**, 70, 2639-2645, 1998.

216. HAAS, K.; FELDMANN, J. Sampling of trace volatile metal(loid) compounds in ambient air using polymer bags: A convenient method. **Analytical Chemistry**, 72, 4205-4211, 2000.

217. NIELSEN, T.; EGSGAARD, H.; LARSEN, E.; SCHROLL, G. Determination of tetramethyllead and tetraethyllead in the atmosphere by a 2-step enrichment method and gas chromatographic-mass spectrometric isotope-dilution analysis. **Analytica Chimica Acta**, 124, 1-13, 1981.

218. PAVAGEAU, M. P.; PECHEYRAN, C.; KRUPP, E. M.; MORIN, A.; DONARD, O. F. X. Volatile metal species in coal combustion flue gas. **Environmental Science & Technology**, 36, 1561-1573, 2002.

219. WINKEL, L.; FELDMANN, J.; MEHARG, A. A. Quantitative and qualitative trapping of volatile methylated selenium species entrained through nitric acid. **Environmental Science & Technology**, 44, 382-387, 2010.

220. FELDMANN, J.; GRUMPING, R.; HIRNER, A. V. Determination of volatile metal and metalloid compounds in gases from domestic waste deposits with GC ICP-MS. Fresenius **Journal of Analytical Chemistry**, 350, 228-234, 1994.

221. AMOUROUX, D.; TESSIER, E.; PECHEYRAN, C.; DONARD, O. F. X. Sampling and probing volatile metal(loid) species in natural waters by in-situ purge and cryogenic trapping followed by gas chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry (P-CT-GC-ICP/MS). **Analytica Chimica Acta**, 377, 241-254, 1998.

222. TAO, H.; MURAKAMI, T.; TOMINAGA, M.; MIYAZAKI, A. Mercury speciation in natural gas condensate by gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 1085-1093, 1998.

223. PECHEYRAN, C.; LALERE, B.; DONARD, O. F. X. Volatile metal and metalloid species (Pb, Hg, Se) in a European urban atmosphere (Bordeaux, France). **Environmental Science & Technology**, 34, 27-32, 2000.

Capítulo 14

ASPECTOS DE SEGURANÇA NO PREPARO DE AMOSTRAS

Márcia Foster Mesko
Rochele Sogari Picoloto
Paola de Azevedo Mello

14.1. SEGURANÇA NO LABORATÓRIO: GENERALIDADES

Em uma análise química é primordial que o analista assuma uma postura cuidadosa e responsável durante os experimentos. Estes cuidados têm como objetivo evitar que ocorram acidentes no laboratório, mas também, e não menos importante, minimizar os erros durante o procedimento analítico e reduzir o consumo de reagentes, minimizando, consequentemente, a geração de resíduos. O conhecimento sobre a análise, bem como a concentração e a dedicação durante o trabalho em laboratório são fatores primordiais para evitar acidentes. Dentre as recomendações gerais que devem ser seguidas, destacam-se:

- É obrigatório o uso de avental abotoado, o qual deverá ter mangas compridas e comprimento na altura do joelho. Priorizar tecidos de algodão a aventais feitos de materiais sintéticos;
- É obrigatório o uso de óculos de segurança. Não é recomendado o uso de lentes de contato no laboratório;
- É obrigatório o uso de sapatos fechados;
- É recomendado verificar a toxicidade, a inflamabilidade e a compatibilidade das substâncias químicas que serão usadas;
- É recomendado estudar a compatibilidade das substâncias químicas com as vidrarias e os equipamentos que serão utilizados;
- É proibido manipular produtos inflamáveis próximos a fontes de calor;
- É obrigatória a manipulação de reagentes químicos voláteis e/ou tóxicos em capela de exaustão;
- É importante manter todos os frascos e recipientes identificados. Não é recomendado manusear reagentes que estejam com identificação incompleta, tampouco acondicioná-los em frascos sem identificação;
- Todo laboratório deve possuir equipamentos de proteção coletiva e itens de primeiros socorros, a serem utilizados em caso de acidentes;
- Não é recomendado trabalhar sozinho no laboratório;
- Não se deve comer, beber ou fumar no laboratório.

Especialmente no que tange ao preparo de amostras, é necessária atenção extrema do analista, haja vista a manipulação de reagentes e de sistemas sob temperatura e pressão elevadas. Apesar da maioria dos equipamentos contemplar dispositivos

de segurança, que minimizam os riscos de acidentes (por exemplo, a liberação de pressão durante a decomposição), não há garantia de que não aconteçam imprevistos. Sobretudo, é de extrema importância o conhecimento do funcionamento dos itens de segurança, uma vez que cada fabricante faz uso de dispositivos adequados ao que o sistema se propõe. O correto uso e entendimento dos dispositivos e sistemas certamente conduzirá a um trabalho com a segurança necessária.

Nesse capítulo, serão abordados os principais aspectos de segurança inerentes à etapa de preparo de amostras. Contudo, não serão discutidas as peculiaridades de equipamentos disponíveis no mercado. Ao invés disso, serão apresentadas algumas características técnicas importantes, com o objetivo de prover informações para a execução de um trabalho seguro em laboratório.

14.2. SEGURANÇA NO LABORATÓRIO DE PREPARO DE AMOSTRAS

No planejamento e execução do preparo da amostra, é indispensável que o analista faça a escolha de práticas seguras de manipulação. Estas práticas devem contemplar as condições necessárias à decomposição das amostras de acordo com os limites operacionais.[1] Algumas questões importantes para garantir práticas seguras em um laboratório, incluem:

- os sistemas de controle de exaustão e ventilação são efetivos e estão regularmente sob manutenção?
- os procedimentos estão de acordo com normas de segurança?
- os equipamentos de proteção individual e de segurança coletiva estão acessíveis ao uso?
- os usuários estão treinados para as técnicas que executam e para a operação dos equipamentos?
- a estrutura do laboratório é adequada no que diz respeito aos sistemas de armazenamento, limpeza e destinação de resíduos?

Muitos destes aspectos fazem parte do conjunto de práticas seguras para laboratórios de química. Em relação à etapa de preparo de amostras, além dos aspectos inerentes ao sistema de decomposição em uso, é preciso dar atenção ao tipo de amostra e aos reagentes utilizados.[2]

A competência do profissional em trabalhar com cautela ao longo do processo de decomposição, desde a etapa de pesagem até a obtenção do digerido final, é o pré-requisito mais importante para garantir a segurança e a qualidade no preparo de amostras. A própria instrumentação, contudo, precisa proporcionar condições seguras ao analista durante a etapa de decomposição. Isto pode acontecer, por exemplo, por meio de sistemas automáticos que auxiliam na adição de reagentes químicos, no início ou durante o procedimento de decomposição. Porém, faz-se necessário o uso de dispositivos que indiquem quando houver a liberação de gases tóxicos durante esse procedimento. Da mesma forma, funções de segurança que controlem reações químicas inesperadas ou erros de operação são imprescindíveis para evitar acidentes.

De maneira geral, os equipamentos precisam oferecer sistemas de controle de pressão e de temperatura que garantam a segurança, tanto do analista quanto do laboratório.[2] Neste capítulo, serão discutidas as principais características dos dispositivos de segurança em vários tipos de instrumentos, com aquecimento convencional ou assistido por radiação micro-ondas, com o uso de frascos abertos ou fechados, visando:

- Manuseio de reagentes químicos e produtos das reações;
- Facilidade de operação (manuseio dos dispositivos mecânicos);
- Controle do instrumento;
- Disposições em situações fora de controle;
- Estabilidade dos componentes contra desgaste químico, físico e mecânico.

14.2.1. Características das amostras e do sistema de decomposição

Além dos analitos, o estado físico das amostras (sólido, líquido ou gás) e, principalmente, sua composição (tipo de compostos na matriz, facilidade de oxidação, reatividade, dentre outros) influenciam diretamente na seleção dos parâmetros de decomposição. O tipo de sistema (frascos abertos ou fechados), as condições de operação (pressão e temperatura máximas de uso, compatibilidade com os reagentes, dentre outros), assim como os reagentes utilizados, devem ser selecionados de acordo com as amostras.[3]

Aspectos de segurança costumam ser mais críticos nos procedimentos para decomposição de amostras cuja matriz é majoritariamente orgânica. O objetivo,

nesses casos, é a conversão dos compostos orgânicos em dióxido de carbono e água. O uso de ácido nítrico é a opção mais adequada pelo seu elevado potencial de oxidação, pureza e, também, facilidade de purificação.[4] Comumente, o peróxido de hidrogênio é utilizado para auxiliar na decomposição, eliminando óxidos de nitrogênio.[5] Quanto maior for a dificuldade de decomposição da matriz, maior será a quantidade de reagente necessária. A potencialização da ação oxidante dos reagentes é feita com o emprego de elevadas temperaturas, associadas ao uso de sistemas com frascos fechados.[3] Porém, a oxidação da matéria orgânica e a volatilização dos ácidos geram produtos gasosos que contribuem para o aumento da pressão no frasco, podendo gerar condições críticas para a instrumentação (pressão e temperatura máximas de trabalho). No caso particular das amostras que contêm majoritariamente substâncias inorgânicas na matriz, é comum o uso de misturas ácidas contendo ácidos clorídrico e fluorídrico.[4]

No que diz respeito às características das amostras, alguns aspectos[2] devem ser considerados, tais como:

- *Quantidade de amostra e volume interno dos frascos de decomposição:* em geral, a massa de amostra limitante para sistemas fechados é dependente do volume do frasco, uma vez que é preciso considerar o volume que será ocupado pela amostra, pelos reagentes e pelos subprodutos e, particularmente, pelos gases que podem ser produzidos. Esta relação é mais relevante para amostras orgânicas, devido à produção de CO_2, o que é dependente da sua quantidade de carbono (por exemplo, 30-40% em vegetais e até 80% em óleo de girassol). Em geral, os fabricantes costumam informar a capacidade máxima dos frascos, limitada pela sua pressão operacional limite. Em média, os frascos suportam em torno de 40 a 50 bar, para os quais se recomenda *ca.* 0,3 a 0,5 g de amostra quando se tratar de materiais orgânicos secos, podendo ser de até 1,0 g para materiais com teor de água de *ca.* 50%, ou até 3,0 g para águas e bebidas;
- *Reatividade das amostras:* na maior parte dos casos, a reatividade dos compostos da matriz com os reagentes nas condições de temperatura e pressão selecionadas para o método é desconhecida. Por isso, a regra geral é a precaução, iniciando-se sempre com pequenas massas de amostra (0,1 g) e com adições lentas de pequenas quantidades de reagentes. Além disso, o uso de baixas taxas de aquecimento é sempre recomendado para que as reações não aconteçam de modo rápido e/ou fora de controle, comprometendo a segurança

e a resistência dos materiais. Cabe salientar que sistemas automatizados facilitam o aquecimento gradual e controlado. Sistemas de ventilação, comuns nos sistemas automatizados e, particularmente, em fornos de micro-ondas, são uma opção para dissipar o calor e controlar efeitos do aumento súbito de temperatura e pressão. Esta particularidade torna-se mais crítica quando a decomposição da matéria orgânica com ácidos oxidantes, especialmente o HNO_3, é considerada. Deve ser dada atenção especial às substâncias que possam sofrer reações de nitração, podendo resultar em nitratos explosivos, tais como tolueno, glicerina e celulose. Ainda, as substâncias orgânicas com duplas ligações são conhecidas pela sua alta reatividade com o HNO_3, como os óleos e as gorduras, os lubrificantes, os siloxanos e alguns álcoois e pigmentos. Uma estratégia para evitar acidentes devido ao aumento súbito da pressão interna dos frascos é o uso de uma etapa de pré-reação;

- *Uso de etapa de pré-reação:* quando se trata da decomposição de amostras com reatividade elevada ou desconhecida, é recomendável fazer uso de uma etapa de pré-reação antes da decomposição. Assim, a amostra e os reagentes são deixados para reagir sob temperatura ambiente, por 15 a 30 min ou, nos casos mais críticos, de um dia para outro (*overnight*). Nestes casos não se deve fechar o frasco reacional para evitar o aumento de pressão provocada pelos gases gerados na reação instantânea. Para minimizar a contaminação pela atmosfera do laboratório, algum material limpo, leve e não abrasivo (como um vidro de relógio) pode ser utilizado para cobrir o frasco de decomposição. Especialmente quando a etapa de pré-reação for aplicada, é bastante importante atentar-se à limpeza do frasco na área em que acontece o contato com a tampa. Caso permaneçam resíduos ou vapores nessa região do frasco, poderá ocorrer o vazamento durante a decomposição da amostra, bem como pontos de superaquecimento.

Os fabricantes dos equipamentos mais modernos para a decomposição assistida por radiação micro-ondas disponibilizam, frequentemente, procedimentos previamente avaliados para diversas amostras, recomendando o programa de aquecimento e as condições reacionais (massa de amostra, tipo e volume de reagentes). Esses procedimentos representam uma forma segura para iniciar um estudo. Se muitas amostras precisam ser digeridas em um mesmo ciclo de decomposição,

a probabilidade de ocorrerem problemas é alta, principalmente se estas apresentarem comportamento distinto frente às mesmas condições reacionais. Nesses casos é recomendado controlar e documentar as condições de decomposição para cada amostra, individualmente. Isso inclui o controle de pressão e temperatura em cada frasco, bem como o controle da irradiação com micro-ondas. O controle da incidência da radiação micro-ondas deverá ser feito em função da amostra que apresentar o comportamento mais crítico com relação à segurança (maior velocidade de reação, reação mais exotérmica, maior liberação de gases, etc).[6]

14.2.2. Características dos reagentes

Os reagentes utilizados na decomposição das amostras exercem impacto direto sobre a segurança desta etapa. Comumente, tais reagentes são tóxicos, corrosivos e altamente reativos com as substâncias da matriz, principalmente os ácidos e bases concentrados de uso comum. Além disso, é importante ressaltar que as soluções de calibração dos instrumentos de medição e os demais reagentes químicos que possam ser utilizados como aditivos durante o preparo da amostra também podem ser tóxicos e requerem atenção e conhecimento de seus riscos e cuidados antes do uso. Adicionalmente, os reagentes utilizados contribuem para a quantidade total de material no frasco reacional, que precisa ter seu limite respeitado. Em alguns casos, há um volume mínimo a ser utilizado, como nos sistemas com aquecimento assistido por radiação micro-ondas, que requerem quantidade mínima de líquido (preferencialmente de elevada polaridade) para absorver a radiação.

Os reagentes utilizados para a decomposição dependem da amostra e do analito, podendo ser ainda uma consequência do método usado. No que diz respeito aos aspectos de segurança, as características dos reagentes comumente utilizados estão listadas na Tabela 14.1. De maneira geral, o analista deve conhecer os aspectos de segurança de todos os reagentes e estar preparado para sua manipulação e providências, em caso de acidentes.

Tabela 14.1. Aspectos de segurança para os principais reagentes utilizados no preparo de amostras.

Reagente	Aspectos de segurança
Água	A diluição dos reagentes contribui para minimizar a reatividade e riscos de acidentes; contudo, em muitos casos, pode comprometer a eficiência de decomposição.
Ácido nítrico	Oxidante forte, é o principal reagente para a decomposição de matrizes orgânicas. Pode representar riscos, principalmente, quando o teor de matéria orgânica e a reatividade das substâncias forem elevados. Deve ser utilizado com cautela, em quantidades mínimas e com aquecimento lento, principalmente em decomposições que empregam temperaturas elevadas (acima de 200 °C em sistemas fechados).
Peróxido de hidrogênio	Oxidante forte, seu uso deve ser feito com cautela. Comumente é utilizado em combinação com o HNO_3, principalmente pela reação vigorosa, que causa boa dispersão e melhora a interação entre amostra e reagentes, além de provocar a oxidação dos gases nitrosos a NO_3^-, atenuando a coloração dos digeridos.
Ácido clorídrico	Não oxidante, é utilizado principalmente para solubilização de materiais inorgânicos. Contudo, pode contribuir para a formação de espécies reativas e tóxicas na presença de HNO_3 (*por exemplo,* NOCl e Cl_2, presentes na composição da água régia, que requer extremo cuidado na manipulação).
Ácido fluorídrico	Não oxidante, tem seu uso comumente na solubilização de minerais, rochas e solos, sendo efetivo na decomposição de silicatos formando H_2SiF_6. Deve ser utilizado, armazenado e manipulado em frascos de fluoropolímeros ou carbono vítreo. É perigoso, inodoro, pode ser absorvido pela pele e penetrar lentamente, por inalação. Por isso, a sua manipulação requer cuidados especiais.
Ácido sulfúrico	Oxidante quando concentrado e a quente, é usado em casos especiais, principalmente em função de seu alto ponto de ebulição e baixa pressão de vapor. Quando concentrado é desidratante e, por isso, requer cuidados durante a manipulação.
Ácido perclórico	Agente oxidante eficiente próximo de seu ponto de ebulição e em alta concentração. Quando entra em contato com materiais orgânicos é perigoso, podendo formar percloratos, que secos, podem explodir espontaneamente.

14.3. ASPECTOS DE SEGURANÇA DOS SISTEMAS DE DECOMPOSIÇÃO

Conforme discutido em capítulos anteriores, a maior parte dos métodos de preparo de amostras faz uso de aquecimento, controlado ou não. Geralmente, são utilizadas temperaturas relativamente elevadas, seja para extração dos analitos, seja para auxiliar na decomposição das amostras.[2,3] De maneira geral, o aquecimento se

dá de forma convencional ou por radiação micro-ondas. Os conceitos, características, vantagens e desvantagens desses tipos de aquecimento foram detalhados nos capítulos anteriores, de modo que, neste capítulo, será dada ênfase aos aspectos de segurança inerentes aos sistemas.

14.3.1. Sistemas com aquecimento convencional ou por radiação micro-ondas

Os sistemas com aquecimento convencional, geralmente, são equipados com dispositivos de segurança mais simples. Embora recomendado, não é comum a disponibilidade de sensores que limitem a temperatura e, tampouco, que controlem a pressão em função da formação de gases gerados durante a decomposição. Nas situações em que as condições operacionais não são definidas de maneira segura antes do início do procedimento (por exemplo, com uso de uma pequena massa de amostra, com temperaturas mais brandas e/ou com etapas discretas de aumento de temperatura), podem ocorrer problemas relacionados ao rompimento de selos de segurança (quando houver), ou até mesmo explosões dos frascos reacionais.

Uma das principais vantagens do preparo de amostras empregando aquecimento assistido por radiação micro-ondas é que o tempo requerido para a decomposição ou extração é consideravelmente menor.[7,8] Por outro lado, o aquecimento de forma mais rápida pode acarretar em riscos à segurança, principalmente quando são usados frascos fechados. Isto pode ser explicado pelo rápido aumento da pressão interna dos frascos, devido à oxidação da matéria orgânica e consequente geração de produtos gasosos. Em virtude disso, as decomposições assistidas por radiação micro-ondas em frascos fechados não podem prescindir de dispositivos e sensores de segurança. Ao identificarem qualquer situação insegura, cessam a emissão de radiação micro-ondas e interrompem o aquecimento, controlando a velocidade de reação e, consequentemente, o aumento de pressão.[2]

Além disso, como item de segurança, nesses sistemas, as micro-ondas são distribuídas em uma cavidade blindada contra vazamentos.[9,10] Tanto no caso dos fornos de micro-ondas com cavidade como nos sistemas com radiação focalizada, os projetos devem garantir que não haja vazamento de radiação. Cada equipamento possui dispositivos de segurança que desligam automaticamente o magnetron, caso haja risco ao operador e ao sistema. Assim, é importante que se reflita sobre a adequação de

fornos domésticos para uso em laboratório, certificando-se de que as modificações feitas não causem vazamento de radiação. Qualquer indício de corrosão precisa ser averiguado para evitar vazamento de radiação. Para a rotina de laboratório, medidores de vazamento de micro-ondas estão comercialmente disponíveis.

Independente da forma de aquecimento, os sistemas de preparo de amostras fazem uso de frascos abertos ou fechados. Este fator é extremamente relevante quando o assunto é segurança de laboratório. Sistemas abertos permitem que massas elevadas de amostra sejam decompostas, sem aumento da pressão gerada pelos produtos da reação. Porém, quando se tratam de analitos voláteis, as perdas podem ser críticas.[11-13] Além disso, os riscos de contaminação oriunda do ambiente do laboratório devem ser considerados. Por sua vez, os sistemas fechados minimizam esses problemas, mas trazem consigo todos os inconvenientes relacionados ao aumento brusco de pressão, que pode resultar em sérios danos quando não se dispõe de dispositivos que evitem que condições extremas sejam atingidas.[2] A seguir, serão discutidos os aspectos de segurança para sistemas de decomposição em frascos abertos e em frascos fechados.

14.3.2. Sistemas de decomposição com frascos abertos

Sistemas abertos são mais fáceis de serem manipulados, quando comparados aos frascos fechados. A principal recomendação de segurança para este tipo de sistema, comumente na forma de blocos digestores, é sua operação em capela de exaustão, para evitar a liberação dos gases para a atmosfera do laboratório.

A adição da amostra a um frasco de decomposição e, posteriormente, dos reagentes, com aquecimento gradual do sistema, são etapas comuns em uma decomposição em frascos abertos. É possível, inclusive, a adição sequencial de reagentes após iniciado o programa de aquecimento. A adição de reagentes químicos sobre misturas reacionais em elevadas temperaturas é potencialmente perigosa, sendo recomendado o uso de sistemas automatizados. Por fim, o resfriamento total do digerido deve ser feito em uma capela com exaustão para proteger o analista da inalação dos gases liberados.[2]

Em sistemas abertos, a temperatura, geralmente, é definida abaixo ou igual à de ebulição dos reagentes envolvidos no processo, o que pode variar ligeiramente, de acordo com o método. A segurança, bem como a qualidade da decomposição,

está diretamente relacionada com a forma como são combinados os reagentes e como a temperatura é aumentada.

Se a energia for fornecida indiretamente, por exemplo, pelo uso de blocos digestores ou chapas de aquecimento, o controle da temperatura pode ser feito com boa precisão e exatidão se for colocado um sensor (que pode ser um termômetro) diretamente no frasco reacional. Nesse caso, é preciso ter cuidado com a compatibilidade do dispositivo usado, com possíveis choques térmicos, além de evitar contaminação. O ajuste da temperatura de decomposição poderá ser feito lentamente, se a energia liberada não passar a governar o aumento de temperatura como ocorre no caso de reações exotérmicas. Neste caso, o derramamento ou projeção da amostra poderá acontecer facilmente. No caso de um derramamento, os frascos e o sistema de aquecimento (por exemplo, o bloco digestor) serão contaminados e a limpeza de ambos deverá ser feita, além do descarte adequado dos resíduos.

Se a energia for gerada diretamente no digerido, pela irradiação com micro-ondas, o próprio solvente estará mais quente que o frasco. A energia deve ser fornecida da maneira mais uniforme possível, de acordo com a potência e tempo pré-estabelecidos. Ainda, o equipamento deverá registrar a temperatura real nos frascos, fornecendo resposta instantânea. Fenômenos de superaquecimento e, consequentes projeções da mistura reacional, são mais propensos a ocorrer quando a massa de amostra e o programa de aquecimento não são escolhidos cuidadosamente.

É muito importante salientar que decomposições em sistemas abertos usualmente utilizam reagentes concentrados, muitas vezes em volumes relativamente elevados. Geralmente, essas condições, associadas às altas temperaturas, são adequadas à decomposição de vários tipos de materiais.[14] Nessas condições é praticamente inevitável que o digerido final apresente uma concentração ácida elevada. Soluções com concentrações ácidas elevadas podem levar a problemas de interferências durante a análise e danificar componentes instrumentais. Para contornar esses problemas, é usual a completa remoção do solvente/reagente original e a subsequente dissolução dos produtos formados em um segundo solvente/reagente, menos concentrado (por exemplo, soluções ácidas diluídas). Neste caso, a fração líquida (excesso de ácido) é gradualmente removida e os produtos sólidos da reação de decomposição são diretamente expostos ao aquecimento no bloco, chapa ou por radiação micro-ondas. Fenômenos de superaquecimento, projeção e reações espontâneas tornam-se mais prováveis, o que pode ser perigoso.

Atualmente, está disponível comercialmente um sistema com aquecimento assistido por radiação micro-ondas para a decomposição em frascos abertos.[15] Esse possui os dispositivos necessários para garantir o controle de tempo e potência de irradiação, bem como um sensor que monitora eventuais derramamentos, devido a reações muito rápidas. O instrumento é equipado com um sistema de absorção e neutralização de gases, o qual protege o laboratório dos gases tóxicos liberados durante a decomposição. Os principais componentes do sistema são mostrados na Figura 10.22 (Capítulo 10).

14.3.3. Sistemas de decomposição com frascos fechados

O emprego de frascos fechados possibilita que maiores temperaturas de ebulição para os ácidos comumente usados sejam atingidas, aumentando o potencial de oxidação das misturas. Por outro lado, digestões em sistemas fechados sob pressão requerem frascos com maior resistência mecânica, química e térmica. Por exemplo, a 250 °C, a ebulição de soluções aquosas gera uma pressão nos frascos de aproximadamente 30 bar. Se 0,5 g de uma amostra contendo 30% de matéria orgânica for decomposta em um frasco de 50 mL de volume interno, ocorrerá um incremento de aproximadamente 10 bar, devido ao CO_2 gerado. Em tal situação, pela elevada temperatura, em média, o frasco pode estar sujeito a uma pressão de 40 bar.[2]

Acerca do uso de sistemas fechados, considerados tendência em química analítica, cabe ressaltar que a maior parte dos instrumentos comercializados atualmente opera com aquecimento por radiação micro-ondas, empregando vários tipos de frascos (de média e alta pressão) e em quantidades variadas.[9,10,16] Os rotores, usados para fixar os frascos, são equipados com sistemas de controle individual ou em frasco de referência, para medida de pressão e temperatura durante a decomposição. Porém, o sistema para alívio da pressão dos frascos após a decomposição e o sistema de resfriamento, dentre outros, dependem muito do projeto do equipamento e do tipo de frasco usado, conforme as particularidades a seguir.

14.3.4 Características gerais de segurança dos sistemas fechados de decomposição

No caso dos sistemas fechados assistidos por radiação micro-ondas, a ener-

gia é distribuída aleatoriamente no interior da cavidade blindada, a menos que um guia de ondas específico seja usado.

Durante a decomposição, sistemas de segurança limitam a emissão das micro-ondas em condições extremas de reação. Muitos sistemas são equipados com uma unidade de exaustão, que deverá ser conectada a um sistema exaustor (por exemplo, uma capela de exaustão). Normalmente, o próprio fabricante do equipamento recomenda os requisitos para instalação do equipamento no laboratório.

A conexão do forno de micro-ondas ao sistema de exaustão minimiza a liberação de vapores ácidos durante a abertura dos frascos e/ou pela ruptura dos selos de segurança. Sensores adicionais, os quais detectam vapores, tais como NO_x, estão disponíveis em alguns sistemas. A abertura dos frascos, quando a decomposição estiver finalizada, irá causar uma inevitável liberação dos produtos gasosos formados durante a decomposição. Quanto mais controlado e mais lento for este processo, mais segura será a remoção dos gases. Quando ocorrer explosão do recipiente e/ou derramamento de líquidos corrosivos no interior do forno, deve-se fazer uma investigação nos sistemas de segurança para certificar-se de que não tenham sido afetados e de que operem normalmente nas próximas decomposições.

Em sistemas fechados com aquecimento convencional, usualmente são empregados frascos de fluoropolímeros inseridos em um recipiente de metal, o qual apresenta resistência mecânica suficientemente elevada para evitar rupturas ou explosões. Por sua vez, o emprego desse tipo de recipiente metálico não é viável em sistemas que empregam o aquecimento por radiação micro-ondas.

Estratégia comum de muitos fabricantes de fornos de micro-ondas é o uso dos frascos de decomposição no interior de capas protetoras. O frasco para decomposição é projetado para resistir a reagentes químicos, pressões e temperaturas específicas. Materiais transparentes às micro-ondas devem ser usados para aumentar a resistência mecânica e proteger os frascos usados nas decomposições.[7] Contudo, essa característica varia de acordo com o tipo de material. Por segurança, os frascos de decomposição deverão ser limpos e secos externamente, antes de serem inseridos em tais capas. A limpeza das capas protetoras também deverá ser feita, periodicamente, de acordo com o procedimento recomendado pelo fabricante. O uso indevido poderá fragilizar sua estrutura, provocando a redução de sua capacidade de proteção e levando a sérios problemas durante a decomposição.

14.3.4.1 Sistemas de controle de pressão e temperatura

Medições instantâneas de temperatura e pressão em todos os frascos continuam sendo um desafio. Uma solução para o controle de temperatura é fazer a medição na parte externa do frasco reacional (por exemplo, na base do frasco usado para decomposição).[9] Sensores de temperatura na faixa de 100 a 300 °C, sem contato direto com o frasco, não são considerados exatos e necessitam de procedimentos rotineiros de calibração. Em geral, sistemas automatizados para o preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas em frascos fechados possuem tais dispositivos.

Materiais como politetrafluoretileno (PTFE) e modificações (como o PTFE/TFM) são transparentes à radiação infravermelho (IV), com a seleção correta do comprimento de onda. Essa propriedade pode ser explorada para a medição de temperatura dentro do frasco. O controle de temperatura torna-se mais exato dessa forma e a resposta em potência de micro-ondas irradiada será ajustada de forma rápida. Na Figura 14.1 é mostrado um dispositivo de medição de temperatura com IV. Geralmente, há um dispositivo desse tipo instalado em cada forno de micro-ondas, por isso, a temperatura nos frascos é obtida sequencialmente. O rotor, contendo os frascos, move-se dentro da cavidade do forno, resultando em uma frequência de medição que varia de um fabricante para outro. Com a utilização desse sistema, é possível limitar a temperatura máxima e programar rampas de aquecimento. A medição de temperatura durante a decomposição é feita sem que haja contato direto com a amostra e com os reagentes. Contudo, sensores de IV com comprimento de onda adequado, para obtenção de informação no interior dos frascos, não são usuais nos sistemas comerciais.[9] A temperatura medida na parte externa do frasco de decomposição é ligeiramente inferior à do interior do frasco. Esse problema poderia ser corrigido pelo uso de um algoritmo apropriado, mas o tempo de resposta para as mudanças bruscas de temperatura durante a decomposição pode ser longo demais para viabilizar esta estratégia.[2]

Alguns fabricantes disponibilizam sistemas que permitem adaptar um sensor para medições de temperatura no interior do frasco de decomposição. Esses sensores podem informar a temperatura real atingida, pois a medição é feita diretamente na solução.[9,16] Porém, o uso desses dispositivos pode levar a inconvenientes, principalmente, relacionados à contaminação. Além disso, esse sensor é disposto

somente em um dos frascos de decomposição, sendo necessário garantir que as reações nos demais frascos ocorram em condições idênticas.

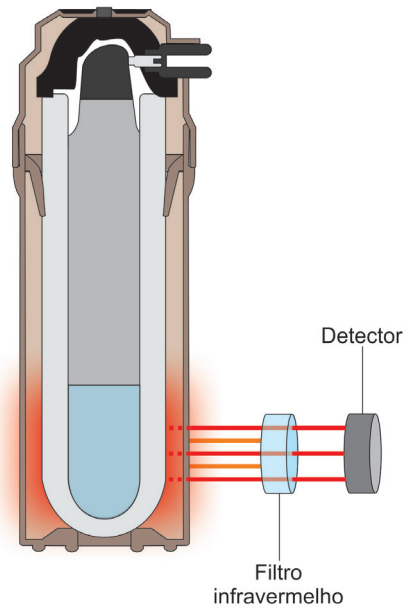

Figura 14.1. Representação esquemática do dispositivo para medida de temperatura por IV.

Para o controle do aumento súbito de temperatura promovido por reações fortemente exotérmicas, os frascos de decomposição podem ser resfriados para diminuir a velocidade da reação. No entanto, este procedimento costuma ser eficaz somente nos primeiros instantes de decomposição. É importante mencionar que alguns fornos de micro-ondas são equipados com sistemas de resfriamento dos frascos através da passagem de fluxo de ar dentro da cavidade.[16,17] Entretanto, este procedimento é menos eficiente do que os sistemas de resfriamento com a passagem do fluxo de ar em torno dos recipientes de decomposição,[9] como demonstrado esquematicamente na Figura 10.19 (Capítulo 10). Além disso, é importante salientar que em casos de aumento brusco de temperatura, que pode desencadear aumento descontrolado de pressão, o dispositivo responsável pela ativação do sistema de resfriamento deve responder rapidamente. Caso contrário, poderá ocorrer a explosão dos frascos[9] ou acionamento de dispositivos de segurança como os selos, utilizado por alguns fabricantes na tampas dos frascos.[10]

Em relação ao controle da pressão, diversos tipos de sensores têm sido usados. Esses podem ser baseados na expansão de gases devido à força exercida pelos

gases comprimidos no interior do frasco de decomposição. A medida da pressão é feita de acordo com o quanto as partes móveis se deslocam contra um medidor de força. A expansão é medida por um sensor óptico, quando o frasco, que está em rotação, passa em frente ao detector. Alternativamente, a medida de pressão é feita dentro do frasco de decomposição, com uso de um sensor. As desvantagens e limitações são basicamente as mesmas que as encontradas nas medidas de temperatura. Ainda, devido às possíveis trocas rápidas de temperatura e pressão e a frequência de medida limitada desses parâmetros, métodos matemáticos têm sido usados para melhorar a resposta dos sensores e controlar o aquecimento.

Um aumento rápido da pressão interna dos frascos pode exceder os limites de segurança dos equipamentos, os quais tendem a ativar, automaticamente, as funções de liberação de pressão. Neste sentido, alguns instrumentos são equipados com dispositivos de segurança que permitem liberar os gases caso a pressão máxima do sistema seja ultrapassada.[10,16] Estes dispositivos são, em geral, discos metálicos localizados nas tampas dos frascos, com tamanho suficientemente grande para permitir a liberação de grandes quantidades de gases, caso seja necessário. Porém, quando a liberação de gás não for suficiente através do selo de segurança, poderá ocorrer a ruptura de outra parte do frasco ou, até mesmo, uma explosão.[2]

Com a liberação dos gases através do selo de segurança (Figura 10.19, Capítulo 10) será necessária a remoção destes através do sistema de exaustão do equipamento. Em caso de explosão, alguns equipamentos são programados para que a porta não abra automaticamente, visando promover condições mais seguras ao analista.[9,10] Além disso, há equipamentos em que a porta também permite a liberação de pressão do sistema, com subsequente e instantâneo fechamento, protegendo o operador.[16]

Levando em consideração os riscos promovidos pelo aumento da pressão, durante a decomposição em frascos fechados, quando em comparação com frascos abertos, alguns fabricantes desenvolveram sistemas semifechados.[16] Estes sistemas permitem a liberação controlada dos gases gerados pela abertura das válvulas, a partir de uma pressão pré-determinada e por um curto período de tempo, de modo a aliviar a pressão dos frascos (Figura 14.2). É importante salientar que neste sistema os frascos nunca serão completamente despressurizados durante a decomposição, para evitar perdas de analitos e projeção da solução contendo a amostra. Ainda, não há disco de ruptura para alívio imediato de pressão, caso seja necessário.[2]

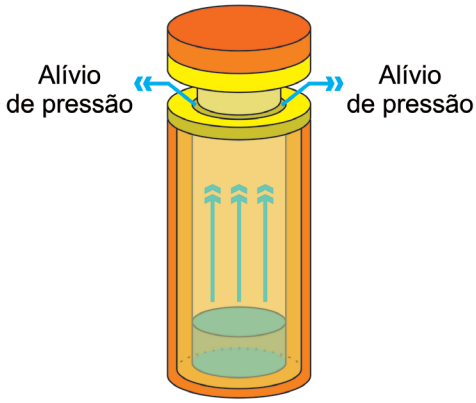

Figura 14.2. Representação de um sistema semifechado, com alívio de pressão pela liberação de gases.

Ao término do programa de decomposição, é recomendado abrir os frascos apenas quando a pressão total do sistema estiver reduzida e a temperatura do sistema for inferior à temperatura de ebulição dos reagentes utilizados (ou, preferencialmente, próximo à temperatura ambiente). Nestas condições, os gases serão removidos de forma controlada, minimizando riscos de projeção e operacionais.

Recentemente, foi desenvolvido um novo conceito empregando câmara única de reação pressurizada com aquecimento assistido por radiação micro-ondas. O objetivo desse sistema é proporcionar condições extremas de temperatura e pressão no interior dos frascos. Neste caso, os frascos são fechados e um sistema tipo autoclave é pressurizado antes do início do aquecimento. As pressões interna e externa dos frascos de decomposição ficam em equilíbrio,[16] prevenindo perdas de analitos por volatilização e/ou contaminação cruzada. As paredes laterais metálicas da autoclave tem a função de proteger o sistema contra reações não controladas dentro dos frascos de decomposição. O volume da autoclave é muito maior que o volume dos frascos convencionais usados em sistemas de micro-ondas, permitindo que os gases formados pela oxidação da matéria orgânica expandam-se e não aumentem a pressão do sistema de forma descontrolada. Ainda, cabe mencionar que devido às características de controle de pressão e temperatura deste equipamento, é possível digerir amostras com características distintas eficientemente e de maneira segura, em um mesmo ciclo de aquecimento.

Um protocolo de registro de todas as medições de temperatura, pressão e potência durante uma decomposição é comum em sistemas modernos, sendo um requisito importante para a garantia de segurança operacional de um método. Cabe

ao analista escolher os parâmetros, levando em consideração o tipo de amostra a ser decomposta. A tecnologia oferecida no mercado, nos dias atuais, é amplamente desenvolvida e oferece soluções para a decomposição de variados tipos de amostras com segurança.

14.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme discutido em muitos capítulos deste livro, atualmente existe uma variedade de equipamentos dedicados ao preparo de amostras. Praticamente todos os tipos de materiais podem ser decompostos, visando à determinação de elementos nas mais variadas concentrações. A tendência é o uso de sistemas que empregam aquecimento assistido por radiação micro-ondas, especialmente em frascos fechados, com controle simultâneo de temperatura e pressão. Assim, há diferentes formas de controle e monitoramento de temperatura, pressão e potência irradiada. Espera-se que estes equipamentos possibilitem o uso de métodos de decomposição com massas elevadas de amostra, com mínima quantidade de reagentes e com redução do tempo de aquecimento, contribuindo para menor geração de resíduos e economia de energia, alinhando-se aos princípios da química analítica verde. Além desses requisitos, condições de segurança são sempre necessárias, conforme enfatizado neste capítulo. Aos benefícios da tecnologia de micro-ondas, em comparação com os sistemas convencionais de aquecimento condutivo, estão sendo agregados dispositivos de segurança e automatização que corroboram para que o quesito de segurança seja preconizado, incluindo sistemas cada vez mais interativos, intuitivos e de fácil manuseio.

REFERÊNCIAS

1. LEADBEATER, N. E.; MCGOWAN, C. B. **Laboratory experiments using microwave heating**. Boca Raton: CRC Press, 2013. 232 p.

2. FECHER, P. A.; SCHLEMMER, G. C.; SCHOEBERL, K. S. **Safety aspects, quality control, and quality assurance using microwave-assisted sample preparation systems** In: Flores, E. M. M., Ed., **Microwave-assisted sample preparation for trace element analysis**, Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 345-384.

3. FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KNAPP, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels - A brief overview and recent applications. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 62, 1051-1064, 2007.

4. ARRUDA, M. A. Z. **Trends in sample preparation**. New York: Nova Science Publishers, 2007. 304 p.

5. BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; GARCIA, E. E.; NÓBREGA, J. A. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, 99, 193-196, 2011.

6. ANWAR, J.; SHAFIQUE, U.; WAHEED UZ, Z.; REHMAN, R.; SALMAN, M.; DAR, A.; ANZANO, J. M.; ASHRAF, U.; ASHRAF, S. Microwave chemistry: effect of ions on dielectric heating in microwave ovens. **Arabian Journal of Chemistry**, 8, 100-104, 2015.

7. MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; GUARNIERI, R. A. **Microwave heating**. In: Flores, E. M. M., Ed., **Microwave-assisted sample preparation for trace element analysis**, Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 59-75.

8. FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, J. C.; KUBOTA, L. T.; KORN, M.; OLIVEIRA, P. V.; ARRUDA, M. A. Influence of microwave heating on fluoride, chloride, nitrate and sulfate concentrations in water. **Talanta**, 85, 2707-2710, 2011.

9. Anton Paar - Microwave Digestion. Disponível em: www.anton-paar.com/br-pt/produtos/grupo/preparacao-da-amostra/. Acessado em: janeiro de 2019.

10. Berghof - Speedwave Microwave Digestion - Microwave Digestion Systems for all requirements. Disponível em: https://www.berghof.com/en/competencies/. Acessado em: janeiro de 2019.

11. MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; DUARTE, F. A.; BIZZI, C. A.; DIEHL, L. O.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Analytical methods for the determination of halogens in bioanalytical sciences: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 405, 7615-7642, 2013.

12. MELLO, P. A.; PEREIRA, J. S. F.; MESKO, M. F.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. Sample preparation methods for subsequent determination of metals and non-metals in crude oil - a review. **Analytica Chimica Acta**, 746, 15-36, 2012.

13. MESKO, M. F.; COSTA, V. C.; PICOLOTO, R. S.; BIZZI, C. A.; MELLO, P. A. Halogen determination in food and biological materials using plasma-based techniques: challenges and trends of sample preparation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 1243-1261, 2016.

14. CEM Corporation - Microwave Digestion. Disponível em: http://www.cem.com/microwave-digestion. Acessado em: janeiro de 2019.

15. Milestone - Microwave Digestion. Disponível em: https://www.milestonesrl.com/products/microwave-digestion. Acessado em: janeiro de 2019.

16. BIZZI, C. A.; NÓBREGA, J. A.; BARIN, J. S.; OLIVEIRA, J. S. S.; SCHMIDT, L.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M. Effect of simultaneous cooling on microwave-assisted wet digestion of biological samples with diluted nitric acid and O_2 pressure. **Analytica Chimica Acta**, 837, 16-22, 2014.

A

Abertura de amostras 211
Ablação com laser 126, 136
Acidez residual 23, 344
Ácido bórico 228, 230, 244, 269
Ácido clorídrico 548, 551
Ácido de Lewis 227
Ácido fluorídrico 267, 548, 551
Ácido fluorosilícico 221
Ácido nítrico 268, 279, 381, 548, 551
Ácido nítrico diluído 339, 341, 342
Ácido nítrico fumegante 217
Ácido perclórico 268, 280, 551
Ácidos de alta pureza 59
Ácidos diluídos 214, 338
Ácidos minerais concentrados 216
Ácido sulfúrico 332, 551
Aço 250
Açúcar 379
Aditivos 381
Adsorção 45, 74
Adsorvente 501
Ágar 393
Ágata 68
Agentes complexantes 91, 224
Agentes desmoldantes 234
Agentes estabilizantes 160
Agitação ultrassônica 164
Aglutinante 102, 152, 157
Água 45, 518
Água régia 30, 223
Água régia de Lefort 223
Água régia invertida 30, 223
Águas residuais 356
Água ultrapura 58
Algas 131, 519
Alimentos 102, 105, 165, 327, 354, 429, 492, 520
Alívio de pressão 318
Aluminatos 225
Aluminossilicatos 252, 253
Amostragem 45, 493
  de suspensões 132, 189
  direta de sólidos 100, 135
Amostra laboratorial 8
Amostra primária 10, 46
Amostras
  ambientais 337, 492
  biológicas 194, 397, 414
  geológicas 251, 332, 492
  orgânicas 80, 395
  refratárias 244
Amostra secundária 10, 46
Amostra teste 8
Análise
  bioinorgânica 512
  de especiação 487, 492, 494, 516
  de suspensões 100, 123, 160, 166
  direta de sólidos 100, 123, 126, 128, 135
  elementar 383
  forense 144
Análise por ativação neutrônica instrumental 126
Anidrido sulfúrico 244
Anidrido sulfuroso 244
Antimônio 517
Aquecimento assistido por micro-ondas 384, 552
Aquecimento condutivo 306, 552
Ar atmosférico 521
Área superficial 226
Argila 253
Ar laboratorial 49
Armazenamento 45, 493, 494
Arroz 393, 519
Arsênio 292, 487, 492, 494, 516
Arsenoaçúcares 487
Arsenobetaína 292, 492, 494, 519
Arsenocolina 492, 519
Arsenolipídeos 487, 492
Ascarita 385
Autoclave 287, 560
Auxiliares de combustão 405, 415, 433

B

Balanço de massa 489, 498
Banhos ultrassônicos 187, 188
Base de Lewis 227
Bauxita 255
Biomoléculas 512, 514
Bloco digestor 270, 271, 554
Bolhas de cavitação 186, 188, 189, 200
Bomba de combustão 412, 423
Bomba de decomposição 280, 281
Boro 241, 250
Branco analítico 13, 44, 46, 49, 58, 195, 280, 345
Brinquedos 415
Bromo 247

C

Cabelo 105, 347, 394
Cadinho 226, 233, 377
  de grafite 231

de níquel 233
de platina 231, 232, 383
de porcelana 381
de Pt-Au 229
de quartzo 381
de sílica 381
de zircônio 233
Cádmio fitoquelatinas 520
Café 342
Calcinação 165
Calibração 132
Câmara única de reação 326, 328
Campo ultrassônico 187, 195
Cana-de-açúcar 105, 153
Capela de exaustão 545, 553, 556
Capela de fluxo laminar 50, 53
Cápsulas
de acetato de celulose 403
de gelatina 349, 403
de metilcelulose 403
de policarbonato 403
Carbeto de boro 250
Carbeto de silício 250, 383
Carbeto de tungstênio 68
Carboidratos 80, 285
Carbonato de cálcio 228
Carbonato de potássio 232
Carbono amorfo 376
Carbono orgânico dissolvido 267
Carbono residual 23, 79, 80, 267, 279, 286, 287, 335, 344, 352, 382, 413
Carbono vítreo 74, 289
Carvão 160, 249, 252, 356, 392, 393, 410, 416, 424, 429
Castanha 520
Catalisadores 37, 102, 224, 243, 273, 384, 387
Cavidade 314
Cavitação acústica 185, 186, 189, 192, 354
Celulose 393
Centrifugação 501
Cerâmicas 102
Cereais 106
Chapas de aquecimento 554
Cimento 251, 356, 520
Cinzas 377, 381
Cisalhamento 97
Cisão homolítica 463
Citros 105
Classes de limpeza 50, 52
Clean up 516
Cloreto de amônio 228
Cloreto de nitrosila 30, 223
Cloro 247, 346
Coeficiente de partição 502
Colapso de bolhas 186
Combustão 374, 376, 377
Combustão em fornos tipo mufla 377
Combustão iniciada por micro-ondas 418, 431
Combustíveis 253, 414
Cominuição 100, 106
Complexos 38
Compostos organofluorados 252, 253
Compostos termolábeis 512
Compostos voláteis 243
Compressão 186
Concentração total 490
Condensadores 330
Condensadores de refluxo 271, 275
Condimentos 106
Condução iônica 307
Confiabilidade metrológica 43, 44, 49, 498
Constante de amostragem 130
Constante dielétrica 309
Contaminação 47, 48, 91, 97, 104, 108, 109, 110, 290, 350, 383, 413
pelo ar 50, 57
por frascos e recipientes 64
por materiais de moagem 70
por reagentes 58
Contaminação cruzada 69
Contaminação endógena 144
Contaminantes em materiais 67, 68
Controle de pressão e temperatura 557
Cool Plasma Asher 389, 390
Coque de petróleo 249, 251, 424, 429
Cosméticos 333
Criolita 253
CRM 144
Crômio 487, 494
Cup-horn 198
CVAAS 167

D

Decomposição 265
ácida 225
ácida em fase vapor 333
assistida por ultrassom 200
com plasma de oxigênio 391, 392
de materiais orgânicos 263, 371
em baixas temperaturas 387, 391
em fase vapor 345
em frascos fechados 555
por combustão 371

por fusão 73, 225
Degradação 105
Derivatização 497
Descontaminação 69, 75, 76, 78
Dessorção 45, 74
Destilação isotérmica 61
Destilação sub-boiling 60, 64
Determinação direta de mercúrio 157, 159
Diagrama de amostragem 9
Diâmetro crítico de microbolhas 185
Dibutilestanho 492, 494
Dibutilmercúrio 521
Diesel 349, 426
Digestão 21, 22, 265
Digestão enzimática 513
Dimetilarsênio 487, 492, 494, 519, 520, 521
Dimetildiseleneto 520, 521
Dimetilmercúrio 492
Dimetilseleneto 520, 521
Dispersão da matriz em fase sólida 508
Disruptores de células 187, 188
Dissolução 21, 211, 214

E

EDXRF 152, 153, 154
Efeito vortex 199
Eficiência de digestão 23
Eficiência de extração 499
Elastômeros 428
Elementos-traço 45
Eletrólitos inertes 224
Emissores de ultrassons 187
Energia
  acústica 187, 191, 192
  de ativação 37
  de dissociação de ligações 463
  de solvatação 21
  livre de Gibbs 31
Entalpia
  de dissolução 31
  de hidratação 31
  de rede 31
Entropia 186
Enxofre 241, 250, 386, 410
Enzimas 502, 514
Equação de Arrhenius 37
Equipamentos de proteção 545, 546
Erros
  de amostragem 130
  por adsorção e dessorção 74
  por contaminação 50
  por decomposição incompleta 79, 83
  sistemáticos 41, 43, 45, 50, 82
Escala de Mohs 98
Especiação química 485, 488, 496
Espécie química 488
Espécies
  hidrofílicas 499
  lipofílicas 499
Especificidade 11
Espectro eletromagnético 304, 305, 467
Estabilizantes 164, 167
Estanho 517
Estufa com circulação forçada 94
Etapa de pré-reação 549
Etilmercúrio 521
ETV-ICP-MS 133, 134
ETV-ICP OES 133, 134
Exatidão 46
Exaustão 546
Extração 163, 190
  acelerada por solvente 502, 511
  assistida por micro-ondas 502, 509, 515
  assistida por ultrassom 191, 196, 198, 199, 201, 502, 510, 515
  com fluído supercrítico 502, 511
  com solvente pressurizado 511
  em fase sólida 506
  em ponto nuvem 505
  líquido-líquido 502
  sortiva em barra de agitação 506

F

FAAS 137
Farinha 152, 519
Fármacos 102, 106, 291, 382, 429, 492
Fator
  de dissipação 309, 310
  de homogeneidade 131
  de perda dielétrica 309
Fenton 464, 472
FEP 65
Fertilizantes 102, 150, 358
Fígado bovino 103, 146, 337, 342, 347, 379, 416, 424
Filmes poliméricos 155
Filtração 45, 501
Filtros
  HEPA 51, 53
  ULPA 53
Flúor 241
Fluorapatita 244

Fluorescência de raios X 126, 154
Fluoreto de potássio 229
Fluoreto de urânio 241
Fluoreto de zircônio 241
Fluoretos voláteis 229
Fluorita 244
Fluoro-complexos 219, 229
Fluoroetilenopropileno 65
Formulações farmacêuticas 425
Forno de grafite 126
Fornos 246
Fornos elétricos 234
Fotocatálise heterogênea 464
Fotólise 465, 466, 469
Foto-oxidação 59, 465
Fotoquímica 462
Fração extraída 163
Fracionamento 112, 113, 114, 488
Frascos
  abertos 559
  com membrana de ruptura 321, 323
  com válvula de alívio 321, 323
  de combustão com oxigênio 404
  de combustão de Schöniger 400, 423
  de decomposição 548
  de decomposição refrigerado 322
  de Kjeldahl 273
  de polipropileno 337
  de quartzo 287
  de reação 325
  fechados 335, 559
  para decomposição assistida por micro-ondas 320
  pressurizados 278
Frequências de ondas acústicas 185, 187
Frutos do mar 358, 379, 380, 428
Fuligem 376, 396, 407
Fundente 226, 227, 244
Fusão 73, 189, 226
  aplicações 229
  fontes de contaminação 232

G

Gás natural 521
Gasolina 399
Genômica 512
GFAAS 137, 161
Gorduras 80, 103, 106, 282, 285, 342
Gradiente de temperatura 343, 344
Grafite 251, 391, 425
Granulometria 101
Grau de decomposição 266
Guia de ondas 314, 329, 330

H

Halogênios 241, 250, 387, 397
Headspace 507
Heterogeneidade 129
Hidrólise 241
  de haletos 242
  enzimática 509
Hidróxido de potássio 228
Hidróxido de sódio 228
Hidróxido de tetrametilamônio 167
High Pressure Asher 286, 289
Hipoclorito de sódio 346
Homogeneidade 95, 126, 127, 129
Homogeneização 45
Homogeneizador ultrassônico 187, 188, 193, 198
Hot-spots 185
HPA 336
Humor vítreo 520

I

ICP-MS 146
ICP OES 161
Ignição 376, 403, 420, 434
Impurezas
  em ácidos 62, 63, 64
  em água purificada 64
  em materiais 64, 66
Incertezas 44
Insonação 185
Integridade de espécies químicas 493
Intensidade ultrassônica 188
Interconversão de espécies 491, 500, 514
Interferências 82, 83, 249
Iodo 247

K

Kevlar® 303
Kjeldahl 268, 272

L

Labilidade e inércia de complexos 38
LA-ICP-MS 146, 149
LA-ICP OES 149
Lâmpada
  ativada por radiação micro-ondas 475

de descarga sem eletrodo 474
de deutério 461
de infravermelho 394
de mercúrio 461
de xenônio 461
Laser 147
Lavagem 92
Leite 254, 342, 349, 394, 416, 424, 428, 520
LIBS 126, 134, 147
Ligas metálicas 245, 250, 251, 329, 357
Limite de detecção 49
Limpeza 75, 91
Liofilização 94, 95, 494
Lipidômica 512
Lixiviação 84, 195
Lodo de esgoto 357, 521
Low Temperature Ashing 388
Lubrificantes 356

M

Macroanálise 127
Magnetron 314, 316, 552
Manteiga 417
Mapeamento 154
Mascaramento 221
Massa de amostra 101, 126, 327, 375, 376, 404, 408, 416, 418, 432
Massa mínima representativa 127
Materiais
biológicos 104, 249, 341, 393, 394, 396, 492
de alta pureza 142
de moinhos 99
de referência 127
de referência certificados 129, 144
geológicos 245, 251, 255
orgânicos 265, 415
particulados 251, 393, 501, 516
refratários 102, 141, 245
vegetais 152, 428
Mecanismo de aquecimento 306, 343
Medicamento 518
Mel 425
Membrana de ruptura 321, 556
Membranas celulares 514
Mercúrio 487, 494, 516
Mesh 112
Metabolômica 512
Metaborato de lítio 229, 231
Metaborato de potássio 232
Metais 102
Metaloenzimas 487
Metalômica 512
Metaloproteínas 428, 487
Metiletilmercúrio 521
Metilmercúrio 487, 492, 494
Método
das adições de analito 134
de Carius 276
de combustão 375
de decomposição de Wickbold 397
de volatilização 430
primário 126
Microanálise 126, 127
Microextração
em fase líquida com fibra oca 504
em fase sólida 506
em gota única 504
líquido-líquido 503
líquido-líquido dispersiva 504
Micro-homogeneidade 101
Microjatos 185, 186, 189
Micro-ondas 302, 308, 314, 326, 345, 354, 355
Micro-ondas com radiação focalizada 329, 332, 335, 351
Migração eletroforética 307
Migração iônica 305, 307, 312
Minérios 102
Miniaturização 503
Mini-frascos 334, 336, 346, 347, 348
Mistura azeotrópica 216, 217
Misturas ácidas 29, 222
Moagem 68, 95, 97, 129
Moagem criogênica 69, 103, 104, 105, 107, 108
Mobilidade iônica 307
Moinhos 132
centrífugos 96
com bolas 96, 101, 102, 103, 106
com rotor de impacto 97
criogênicos 96, 101
de disco 96
de energia fluida 96
de facas 97, 102, 104
Molibdênio 250
Momento dipolar 307
Monohidrogenossulfato de potássio 228
Monometilarsênio 487, 492, 494, 519, 521
Mufla 230, 235, 378, 382, 384
Músculo 342, 519

N

Nanotubos de carbono 102, 249, 251, 425
Nebulização de suspensões 137

Nitrogênio 385
Nitrogênio líquido 103, 108, 395
Nucleação 189

O

Óculos de segurança 545
Óleo 106, 160, 354, 403, 417
  diesel 349, 426
  lubrificante 349
  mineral 399
Ondas
  acústicas 185, 188
  eletromagnéticas 304
  mecânicas 185
Osmose reversa 58
Ossos 380
Oxidação da matéria orgânica 272
Óxido de alumínio 68
Óxido de silício 221
Óxido de trimetilarsina 492, 519
Óxido de zircônio 68
Oxigênio 376, 386
Oxigênio molecular 340
Oxigênio singlete 467

P

Parafina 255
Passivação 30, 36, 214, 217
PEEK 303
Peixes 104, 255, 379, 414, 418, 494, 520
Peneiramento 111, 112
Pentóxido de vanádio 245
Peptidômica 512
Perdas
  de amostra por ignição 383
  de amostra por projeção 383
  de elementos por eletrodeposição 75
  por volatilização 45, 70, 71, 73, 106, 290, 332, 378, 379, 383, 390, 392
Perfluoroalcoxi 65
Peróxido de hidrogênio 224, 341, 548, 551
Peróxido de sódio 228
Petróleo 249, 251, 327, 399, 426, 427, 429
PFA 65, 303, 320, 325, 352
Piche 426
Piezocerâmicas 188
Piroidrólise 239, 241
  aceleradores 243, 244
  aplicações 248, 250
  condensador 247
  reatores 246
Pirólise 376
Plantas 342, 391, 426, 519
Plasma de oxigênio 387, 388, 394
Poliacrilamida 425, 428
Polibuteno 399
Policarbonato 221
Polietileno 65
Polímeros 327, 417, 426, 427
Polímeros fluorados 65, 281
Polímeros molecularmente impressos 506
Polipropileno 65, 221
Politetrafluoretileno 65, 74, 221, 285, 303, 320, 325, 557
Pontos de ebulição de fluoretos voláteis 222
Porção amostrada 8
Porosidade 102
Potência acústica 195
Potencial de eletrodo 35
Potencial de oxidação 278
Potencial padrão de eletrodo 214
Potencial padrão de redução 215
Pré-concentração 45, 502
Prensagem 149
Prensa hidráulica 150
Preparo de pastilhas 149, 156
Preparo de suspensões 164
Preservação de amostras de águas 79
Pressão pontual 186
Pressões de vapor de ácidos 288
Princípio do frasco único 190
Produtos farmacêuticos 427
Profundidade de penetração 310
Programa de aquecimento 326, 549, 557
Propriedades dielétricas da água 312
Propriedades dos ácidos minerais
  ácido clorídrico 216
  ácido fluorídrico 220
  ácido nítrico 217
  ácido perclórico 219
  ácido sulfúrico 218
Propriedades piezoelétricas 187
Proteínas 80, 285, 514
Proteômica 512
PTFE 65, 74, 221, 285, 303, 320, 325, 557
Pureza dos reagentes 49
PZT 187

Q

Qualidade da água 59
Quartzo 65, 66, 74, 104

Queimador de Meker 246
Química analítica verde 249, 503

R

Ração animal 520
Radiação eletromagnética 304
Radiação micro-ondas 299, 301, 303, 304
Radiação micro-ondas focalizada 432, 436
Radiação ultravioleta 459, 461, 462
  equipamentos para preparo de amostras 465, 470, 477, 478, 479
  geração de radicais 464
  preparo de amostras em fluxo 470
  propriedades 463
Radicais hidroxila 464, 467
Radicais livres 186, 189, 463, 467
Rarefação 185, 186
Reagente pré-aquecido 347
Reatividade 548
Reator de quartzo 248
Reator fotoquímico 471
Reflexão das ondas acústicas 189
Refluxo 329
Regeneração de ácido nítrico 294, 339, 340, 343
Representatividade 127
Reprodutibilidade 46
Resíduos
  carbonáceos 396
  da combustão 399
  orgânicos 80
Retículo cristalino 21, 24
Rim 379
Rochas 252, 396
Rompimento homolítico 186
Rotação de dipolos 305, 307, 312
Rotor 314
Ruptura celular 514

S

Sais voláteis 72
Salas limpas 50, 52, 54
Sangue 342, 379, 392, 393
Schöniger 400
Secagem 93, 392, 494
  por radiação micro-ondas 94
  por radiação no infravermelho 95
Sedimentos 357, 418
Segregação de partículas 112
Segurança 295, 312, 543, 545, 546, 551, 555, 559
Selênio 494
Selenocisteína 492, 520
Selenoetionina 520
Selenometionina 492, 520
Seletividade 11
Semimicroanálise 127
Sequência analítica 43, 490
  ação 13
  amostragem 7
  avaliação 13
  calibração 12
  definição do problema 5
  diagrama de etapas e tarefas 14
  erros e incertezas 47
  escolha do método 5
  medição 12
  pré-tratamento da amostra e separação 11
Sienito 255
Silicatos 221, 225, 269, 284
Sistema
  aberto 270, 293, 324, 345
  de combustão de Wickbold 397, 398
  de decomposição em fluxo 350, 352
  de piroidrólise 242, 245, 248
  de resfriamento 558
  dinâmico de combustão 394
  fechado 275, 290, 293, 301, 324
  monomodo 318, 320
  multimodo 318, 320
  Peltier 247
Soja 105, 342
Sólidos
  covalentes 25
  iônicos 24
  metálicos 25
  moleculares 24
Solos 254, 356, 357, 396, 427, 520
Solubilidade
  aspectos cinéticos 36
  aspectos termodinâmicos 31
  de sólidos inorgânicos 27
Solubilização de sólidos orgânicos 209
Solução absorvedora 73, 244, 247, 249, 404, 406, 408, 412, 414, 420, 425, 429, 434
Solução do branco 13
Solução extratora 191
Sondas ultrassônicas 193, 197, 354
Sonicação 185, 189, 191, 198, 200
Sonoquímica 192
SS-GFAAS 131, 133, 134, 137, 141
Sub-amostra 8
Submicroanálise 127

Suco de laranja 351
Sulfato de cobre 272
Sulfato de lítio 274
Sulfato de mercúrio 274
Sulfato de potássio 274
Superaquecimento 310, 317, 330, 345, 554
Suplemento alimentar 358
Suplemento mineral 253
Suporte de platina 241
Surfactantes 168, 190, 514

T

Tamanho de partículas 96, 97, 107, 109, 110, 112, 113, 132, 139, 151, 155, 161, 190, 193
Taxas
de aquecimento 313, 548
de sedimentação 190
Tecidos
animais 103, 391, 393
biológicos 392
vegetais 150
Técnicas hifenadas 491, 495
Temperaturas de ebulição de haletos 72
Tensoativos 168, 190, 514
Teores de carbono em amostras biológicas 284
Teoria das colisões 36
Tetraborato de lítio 229
Tetraborato de sódio 229
Tetraetilchumbo 521
Tetraetilestanho 521
Tetrametilarsônio 492
Tetrametilchumbo 521
Tetrametilestanho 521
TFM® 67, 303, 320, 325, 557
Tintas 102, 356
Titanato de bário 187
Titanato de chumbo 187
Titanato zirconato de chumbo 187
Transdutores magnetoestritivos 187
Transdutores piezoelétricos 187, 188
Tratamento do ar 50
Tributilestanho 492, 494
Trietilchumbo 519, 521
Trifenilestanho 492
Trimetilantimônio 519, 521
Trimetilarsênio 521
Trimetilchumbo 519, 521
Troca iônica 58
Tubo de Carius 276, 277
Tubo de combustão 378, 383, 384
TXRF 167
Tyler Mesh 112

U

Ultramicroanálise 127
Ultrassom 183, 185, 354
Urina 518
UV-A 461
UV-B 461
UV-C 461

V

Validação 6
Válvula de alívio 321
Vapor d'água 241
Vaporização eletrotérmica 126
Vegetais 255, 337
Ventilação 546
Via úmida 265
Vidro 74, 245, 250, 356
Vidro borossilicato 65, 66
Vinho 518
Viscosidade 310
Vitrificação 234

W

WDXRF 154
Wickbold 397

X

Xisto 518
XRF 126, 154

Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar

Este livro foi escrito por 28 profissionais de várias instituições de ensino e pesquisa do Brasil, com larga experiência no desenvolvimento de métodos de preparo de amostras de diversos materiais, visando à determinação de elementos em materiais biológicos, alimentos, materiais tecnológicos, rochas, solos, sedimentos, e à análise de especiação química. Os fundamentos de cada método, a instrumentação necessária, e as diversas aplicações são apresentados em detalhes, desde os mais simples até os mais avançados tecnologicamente e que se situam na fronteira do conhecimento.

A impressão deste livro
contou com o apoio da

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-64099-22-7